

UNIVERSITÉ DE LYON
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE — N° 290

*Travail du Laboratoire de Chimie Alimentaire
et d'Analyses Biologiques
de l'Hôpital Militaire Thermal de Vichy*

Une méthode de dosage des sucres basée sur les virages différentiels de deux indicateurs colorés

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(SECTION DE PHARMACIE)

présentée et soutenue publiquement
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 23 Mai 1939.

PAR

Georges ANCEL

PHARMACIEN SOUS-LIEUTENANT

Né à Conty (Somme), le 30 Juin 1914.

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX

1939

**Une méthode de dosage des sucres
basée sur les virages différentiels
de deux indicateurs colorés**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITÉ DE LYON
FACULTÉ DE MEDECINE ET DE PHARMACIE — N° 290

*Travail du Laboratoire de Chimie Alimentaire
et d'Analyses Biologiques
de l'Hôpital Militaire Thermal de Vichy*

Une méthode de dosage des sucres basée sur les virages différentiels de deux indicateurs colorés

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(SECTION DE PHARMACIE)

présentée et soutenue publiquement
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 23 Mai 1939.

PAR

Georges ANCEL

PHARMACIEN SOUS-LIEUTENANT

Né à Conty (Somme), le 30 Juin 1914.

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX

—
1939

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire	M. L. HUGOUNENQ
Doyen	M. J. LEPINE
Assesseur	M. A. MOREL

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. LANNOIS, HUGOUNENQ, PIC, CONDAMIN,
PAVIOT, NICOLAS, VILLARD, NOVE-JOSSERAND, TIXIER, COLLET, GAYET, CLUZET

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. FROMENT
Cliniques chirurgicales	SAVY
Clinique obstétricale et Accouchements	PATEL
Clinique ophtalmologique	BERARD
Cliniques dermatologique et syphiligraphique	VORON
Clinique neurologique et psychiatrique	BONNET
Clinique médicale infantile	FAVRE
Clinique gynécologique	LEPINE (J.)
Clinique Oto-rhino-laryngologique	MOURIQUAND
Clinique urologique	COTTE
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	REBATTU
Clinique et prophylaxie de la tuberculose	CIBERT
Clinique des maladies infectieuses	TAVERNIER
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie	COURMONT
Chimie biologique et médicale	CHALIER (J.)
Chimie organique et Toxicologie	PONTHUS
Matière médicale et Botanique	FLORENCE
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	MOREL
Anatomie	MANCEAU
Histologie	GUIART
Physiologie	LATARJET
Pathologie interne	POLICARD
Pathologie générale et thérapeutique	HERMANN
Anatomie pathologique	CORDIER
Chirurgie opératoire	CADE
Médecine expérimentale et comparée et Bactériologie ..	J. F. MARTIN
Médecine légale	SANTY
Hygiène	ARLOING (F.)
Pharmacie et Pharmacologie	Etienne MARTIN
Hydrologie thérapeutique et Climatologie	ROCHAIX
	LEULIER
	PIERY

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un Cours d'Anatomie médico-chirurgicale	MM. THEVENOT (Léon)
Chargé d'un cours d'Embryologie	NOEL

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
GABRIELLE	GUILLEMINET	DE ROUGEMONT	MORIN
DECHAUME	MORENAS	P. RAVAUULT	BERTRAND
BERNHEIM	REVOL	PIGEAUD	CLAVEL
POLLOSSON	ENSELME	CROIZAT	LEVRAT
CHAMBON	SEDALLIAN	DELORE	
EPARVIER	CREYSSEL	JOSSERAND	

Examineurs de la Thèse

M. MANCEAU, *Président.*

MM. MOREL, CHAMBON, REVOL, *Assesseurs.*

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. MANCEAU
PROFESSEUR DE MATIÈRE MÉDICALE ET DE BOTANIQUE
PHARMACIEN-COLONEL
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

A MES JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR MOREL
PROFESSEUR DE CHIMIE ORGANIQUE ET TOXICOLOGIE

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ CHAMBON
PHARMACIEN-CHEF DE L'HÔPITAL EDOUARD-HERRIOT

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ REVOL
PHARMACIEN DES ASILES

A MONSIEUR LE PHARMACIEN-COMMANDANT REY
PHARMACIEN-CHIMISTE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE

A MONSIEUR LE MÉDECIN-COLONEL LANGLOIS
MÉDECIN-CHEF DE L'HÔPITAL MILITAIRE THERMAL DE VICHY
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

Avant-Propos

Il nous est bien agréable d'unir ici dans un même sentiment de gratitude nos Maîtres en cette faculté, nos Chefs militaires et notre Maître de stage, dont les conseils et l'exemple nous ont permis de suivre la voie que nous nous étions tracée.

Monsieur le Professeur MANCEAU nous a toujours témoigné la plus grande bienveillance : aussi sommes nous particulièrement heureux de pouvoir l'assurer de notre sincère reconnaissance pour le grand honneur qu'il nous fait en acceptant de présider cette thèse.

Monsieur le Pharmacien-Commandant REY, notre Chef, nous a guidé dans l'accomplissement de ce travail de façon si précise et si amicale surtout, que nous le prions de trouver ici un témoignage de notre profonde gratitude et de notre respectueux attachement.

Nous remercions particulièrement Monsieur le Docteur LESCOEUR, Directeur du Laboratoire d'Hydrologie de Vichy de nous avoir aimablement fourni tous les

renseignements utiles, concernant les travaux de Monsieur H. LESCOEUR qui fut Professeur à la Faculté de Lille.

Nous n'aurions garde d'oublier ici notre Maître de stage Monsieur GRELIER, qui nous conseilla tout au long de nos études. Au Maître et à l'ami qu'il a bien voulu être pour nous, nous exprimons notre dévouée affection.

Introduction

Il est à peine besoin de souligner l'importance industrielle alimentaire et biologique des hydrates de carbone en général, et, plus particulièrement des sucres. Leur détermination quantitative a donné lieu à de très nombreux travaux qui ont abouti à des modes opératoires divers, basés sur les propriétés fondamentales de ce groupe de corps, propriétés qu'ils manifestent directement, ou qu'ils acquièrent après transformation préalable par hydrolyse ou interversion : Fermentescibilité, formation d'osazones, pouvoir rotatoire, pouvoir réducteur.

La première n'est applicable que dans des cas très particuliers et sert surtout à l'élimination d'un sucre.

La formation d'osazone, très précieuse pour l'identification, n'aboutit pas à une réaction totale, et ne peut de ce fait, servir à une évaluation quantitative.

Restent seules les méthodes polarimétriques et celles opérant par réduction. Ces deux groupes se complètent d'ailleurs, mais malgré l'intérêt et l'utilité des méthodes optiques, ce sont surtout les dernières qui fournissent les procédés les plus utilisés.

Parmi les oxydes métalliques susceptibles d'être réduits, en milieu alcalin, par les sucres réducteurs, c'est l'hydrate de cuivre qui s'est montré le plus pratique, et qui est à la base de presque tous les réactifs proposés.

C'est au chimiste français BARRESWIL que l'on doit le premier réactif cupro-potassique et le premier dosage des sucres réducteurs au moyen de cette liqueur.

En 1844, un concours est ouvert par la Société d'Encouragement pour l'Industrie Nationale, en vue de connaître une méthode permettant de déterminer promptement et sans le concours de la méthode polarimétrique de BIOT, la quantité de matière sucrée (saccharose et glucose) contenue dans la racine de betterave.

Le prix est obtenu par BARRESWIL, professeur de chimie à l'Ecole Municipale Turgot et futur collaborateur de Claude BERNARD.

BARRESWIL utilise la réaction antérieurement décrite par le chimiste allemand TROMMER qui, en 1841, avait signalé à l'Académie des Sciences de Berlin, la curieuse propriété que possède le glucose de réduire lentement à froid, rapidement à chaud, l'oxyde cuivrique hydraté en donnant un précipité d'oxyde cuivreux anhydre.

TROMMER ne vit peut-être pas tout l'intérêt que l'on pouvait retirer de la découverte de cette réaction et c'est à BARRESWIL que revient le mérite d'avoir trouvé une « liqueur d'épreuve » et d'avoir montré que le glucose pouvait être dosé volumétriquement avec grande netteté en se basant sur la décoloration finale de la solution cuivrique.

La « liqueur d'épreuve » est une liqueur cupro-potassique obtenue en mélangeant une solution de sulfate cui-

vrique avec une solution de tartrate neutre de potassium additionnée de potasse [1].

Dès lors, de nombreux auteurs, appliquent la méthode de BARRESWIL au dosage des sucres réducteurs ; entre autre SCHWARZ en 1849 [2] au dosage de l'amidon, POGGIALE [3], professeur au Val-de-Grâce, l'utilise la même année pour doser le lactose dans le petit lait, enfin FEHLING [4] effectue par le même procédé le dosage du glucose dans l'urine, dans le jus de raisin et le jus de pomme.

FEHLING, professeur de chimie à l'école polytechnique de Stuttgart [5] publie le premier une formule appelée à connaître le plus grand succès.

Désormais, l'expression « Liqueur d'épreuve de BARRESWIL » tombe dans l'oubli, bannie définitivement par l'appellation « Liqueur de FEHLING ».

« Fehling'sche alkalische Kupferoxydlösung ».

Mais si la liqueur de FEHLING, à quelques variantes près, se retrouve dans les différentes méthodes : celles-ci diffèrent par l'appréciation de la fin de la réaction ou par l'évaluation de la quantité d'oxydure de cuivre formé. A l'heure actuelle c'est la méthode de BERTRAND qui est considérée comme la plus exacte. Cependant, dans ce procédé, il est impossible d'éviter une réoxydation partielle de l'oxyde cuivreux séparé ; sans doute cette réoxydation est-elle réduite le plus possible jusqu'à devenir pratiquement négligeable, lorsque le manipulateur prend les précautions nécessaires, mais précisément pour cette raison, l'application correcte de la méthode de BERTRAND exige un entraînement spécial.

Nous avons pensé qu'il serait utile pour le chimiste de

posséder une méthode qui, tout en conservant la fidélité et la commodité d'application de celle de BERTRAND n'en présenterait pas l'inconvénient : c'est-à-dire une méthode dans laquelle serait dosé l'ion Cu et non plus le Cu^2O .

H. LESCOEUR, en 1897, a signalé la possibilité de doser correctement quelques ions métalliques, et notamment le Cu^{++} , par une simple méthode alcalimétrique, basée sur les virages différentiels de deux indicateurs colorés. L'application de ce principe à une méthode générale de dosage des sucres réducteurs est l'objet du présent travail.

Plan

Introduction

PREMIÈRE PARTIE

Chapitre I. — Les liqueurs cupro-alcalines.

Chapitre II. — Les méthodes de dosage. Généralités.
Méthodes de : FEHLING, de CAUSSE-BONNANS, de BER-
TRAND.

Chapitre III. — Les travaux de H. LESCOEUR.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

Chapitre I. — Le dosage du cuivre selon la méthode des
deux indicateurs.

Chapitre II. — Application au dosage du glucose et des
sucres réducteurs en général.

Chapitre III. — Applications de la méthode proposée en chimie alimentaire, chimie biologique, et pharmacie chimique.

Chapitre IV. — Application particulière au dosage du glucose contenu dans le sang ou dans le liquide céphalo-rachidien.

Conclusions.

Bibliographie.

Première Partie

CHAPITRE PREMIER

Les liqueurs cupro-alkalines

Lorsqu'à une solution de sulfate de cuivre, on ajoute de la soude ou de la potasse diluée, il se forme un précipité bleu d'oxyde de cuivre $\text{Cu}(\text{OH})^2$ qui, chauffé, devient noir en se transformant en oxyde cuivrique CuO par déshydratation au sein même de l'eau.

Mais, si avant d'ajouter la potasse ou la soude, on additionne la solution de sulfate de cuivre d'un excès de tartrate alcalin, la précipitation n'a plus lieu, même à l'ébullition : le liquide reste bleu, quelles que soient les quantités d'alcali ajoutées. Le tartrate de soude ou de potasse possède, en effet, deux fonctions alcooliques qui vont jouer le rôle d'acide faible vis-à-vis de l'hydrate cuivrique formé par action de l'alcali sur le sulfate de cuivre, et donner un cupri-tartrate qui constitue la liqueur de Fehling.

La formule de la liqueur donnée par Fehling en 1849 était la suivante :

On fait dissoudre d'une part 40 gr. de sulfate cuivrique ($\text{SO}_4\text{Cu}, 5 \text{H}_2\text{O}$ dans environ 160 cc. d'eau ; d'autre part, 160 gr. d'acide tartrique dans un peu d'eau ; on ajoute à cette dernière solution, d'abord 600 à 700 gr. de lessive de soude ($d : 1,12$), puis la solution de sel cuivrique ; finalement, on complète à 1154,4 cc. [5].

Cette « liqueur de Fehling » fonctionne comme un générateur continu d'hydrate cuivrique. Cet hydrate, maintenu en dissolution joue le rôle d'oxydant vis-à-vis d'un certain nombre de substances, telles que les corps à fonction aldéhydrique ou cétonique : glucose, lévulose, lactose, maltose. L'hydrate est lui-même réduit à l'état d'oxyde cuivreux rouge Cu_2O , qui précipite rapidement à cause de sa grande densité. Cette précipitation est quantitative.

De nombreux auteurs modifièrent la liqueur de Fehling dans le but de la perfectionner.

BÖDECKER [6] emploie, dès 1855, le sel de seignette, FEHLING, en 1858, en préconise lui-même l'usage, ce sel ayant l'avantage de cristalliser facilement, mais l'instabilité du réactif subsistait. En effet, la liqueur s'altère sous l'influence des rayons solaires, et même de la lumière diffuse de telle sorte qu'il se produit fréquemment par simple ébullition, une auto-réduction appréciable. Pour y remédier, STADELER et KRAUSE [7], en 1854, proposent l'emploi de 3 liqueurs séparées : tartrique, alcaline et cuivrique, que l'on mélange au moment de l'emploi.

MAERCKER [8] n'emploie que deux solutions : l'une tartrique alcaline et l'autre cuivrique.

D'autres auteurs étrangers proposèrent pour maintenir en dissolution l'oxyde cuivrique, de remplacer l'acide tartrique par d'autres corps susceptibles de former comme lui des émétiques. LÖWE, 1870, la glycérine [10] ; SCHMEDEBERG, 1885, la mannite [11] ; LUPP, 1898, l'acide citrique [12] ; CARREZ, 1909, l'acide lactique [13].

Dans le but d'éviter la présence d'une matière organique dans la liqueur : SOLDANI [14], en 1876, conseille l'emploi de bicarbonate de potassium susceptible de former avec l'hydrate d'oxyde cuivrique un sel double soluble dans l'eau. OST [15], en 1890, dans le même but, utilise un mélange de bicarbonate et de carbonate neutre de potassium.

Il semble que toutes ces modifications n'aient pas été retenues, car la liqueur de Fehling employée de nos jours est préparée selon le mode de MAERCKER, en deux solutions, et suivant la formule due à DENIGES [9].

Liqueur A .

Sulfate cuivrique ($\text{SO}^4\text{Cu}, 5\text{H}^2\text{O}$)	35 gr.
Acide sulfurique pur	5 cc.
Eau distillée q.s.p.	1000 cc.

Liqueur B :

Sel de Seignette	150 gr.
Lessive de soude pure non carbonatée à 36° B	300 cc.
Eau distillée q.s.p.	1000 cc.

Ces solutions inaltérables, mélangées à volumes égaux au moment de l'emploi, permettent d'obtenir un réactif toujours récent et de titre constant.

CHAPITRE II

Les méthodes de dosage

A. — GÉNÉRALITÉS

FEHLING publie, en 1848, trois importants mémoires sur le dosage des sucres au moyen du réactif cupropotassique de sa composition [16]. Il signale que, dans des conditions *rigoureusement déterminées* [17], une molécule de glucose réduit 10 molécules d'oxyde cuivrique, résultat qui est ultérieurement confirmé par NEUBAUER [18] et CLAUS [18].

Le phénomène intime de la réduction du réactif cupropotassique par les réducteurs est très complexe. Cette réduction ne peut, à l'encontre de la plupart des réactions chimiques appliquées à la volumétrie, être exprimée par une équation. Les substances qui prennent

naissance dans l'oxydation du glucose sous l'action de la liqueur cupro-alkaline sont, en effet, très nombreuses : acide formique, acétique, tartronique (CLAUS [19]). Acide carbonique et glycolique (HABERMANN et HÖNIG) [20]. Acide mésoxalique (KJELDALH [21]). Acides oxyphényl propionique, dioxyphénylpropionique, glucique, gluconique et saccharique, pyrocatéchine (ALLEIN et GAUD [22])... etc.

SOXHLET [23], professeur de chimie agricole à la *Technische Hochschule*, de Munich, contribua fortement à rendre plus rigoureux le titrage des sucres réducteurs au moyen du réactif cupro-potassique.

Il signale, en particulier, les faits suivants :

1° L'action réductrice d'un sucre est d'autant plus considérable qu'il existe un plus grand excès de réactif et que ce dernier est plus concentré.

2° Pour un même sucre, la quantité d'oxyde cuivrique réduit varie avec la durée d'ébullition.

3° Tous les sucres réducteurs n'ont pas le même pouvoir de réduction, les conditions du mode opératoire (composition et concentration du réactif, alcalinité, concentration de la solution sucrée, durée d'ébullition) restant semblables.

De plus, un grand nombre de substances troublent la réaction de réduction, notamment : la dextrine (PELICOT, 1844, [1]), les tanins mucilages et les albumines (FEHLING, 1849) [5], d'où la proposition de nombreux réactifs pour déléguer les liquides sucrés. On peut rete-

nir notamment, le sous-acétate de plomb (FEHLING) [5] et le nitrate acide de mercure (TANRET, 1878) [24] ; ce dernier actuellement connu sous le nom de Réactif de PATEIN et DUFAU [25].

Les méthodes de dosage des sucres réducteurs au moyen des liqueurs cupro-alkalines sont excessivement nombreuses, toutes reposent sur trois types qui sont les suivants :

1° *Appréciation de la décoloration du réactif.* — C'est la méthode type de FEHLING de laquelle est dérivée la méthode de CAUSSE-BONNANS [26].

2° *Détermination de la quantité d'oxyde cuivrique réduit à l'état d'oxyde cuivreux.* — Le tableau I que nous empruntons à CATELAIN [27] résume les différentes méthodes proposées (voir tableau I, page 24).

3° *Détermination de la quantité d'oxyde cuivrique non réduit* (voir tableau II, page 25).

En fait la presque totalité de ces méthodes ne sont pas rentrées dans le domaine courant de la chimie analytique.

Trois méthodes seulement sont couramment employées de nos jours. Ce sont celles de FEHLING, CAUSSE-BONNANS et de BERTRAND que nous allons étudier.

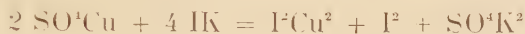
TABLEAU I

Par volumétrie	1° <i>Manganimétrie</i> : SCHWARZ, MOHR, BERTRAND [28]
	$(\text{SO}^4)^3\text{Fe}^2 \xrightarrow{\text{Cu}^2\text{O}} \text{SO}^4\text{Fe} \xrightarrow{\text{MnO}^4\text{K N/10}} (\text{SO}^4)^3\text{Fe}^2$
	2° <i>Stannimétrie</i> : PELLET
	$\text{Cu}^2\text{O} \xrightarrow{\text{oxydation}} \text{CuO} \xrightarrow{\text{Cl}^2\text{Sn titré}} \text{Cu}^2\text{O}$
	3° <i>Formation d'un cyanure complexe</i> : MOHR, PERROT
Par gravimétrie	$\text{Cu}^2\text{O} \xrightarrow{\text{oxydation}} \text{CuO} \xrightarrow{\text{NH}^3} \text{Complexe bleu} \xrightarrow{\text{CNK titré}} \text{Complexe incolore}$
	4° <i>Acidimétrie</i> : SIDERSKY [29]
	$\text{Cu}^2\text{O} \xrightarrow{\text{ClH normal} + \text{ClO}^3\text{K}} \text{Cl}^2\text{Cu}$
	Titrage excès ClH par NaOH normale.
	5° A l'état de Cu^2O : AMBUHL
Par gravimétrie	6° A l'état de CuO : MULDER
	$\text{Cu}^2\text{O} \xrightarrow{\text{oxydation}} \text{CuO}$
	7° A l'état de Cu :
	a) par réduction de Cu^2O : MAERCKER
	$\text{Cu}^2\text{O} \xrightarrow{\text{réduction}} \text{Cu}$
Par gravimétrie	b) par électrolyse : FORMANEK
	$\text{Cu}^2\text{O} \xrightarrow{\text{oxydation}} \text{CuO} \xrightarrow{\text{électrolyse}} \text{Cu}$

TABLEAU II

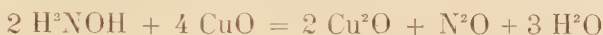
Par volumétrie

1° *Iodométrie* : POLITIS



2° *Réductrimétrie* : BANG

a) Hydroxylamine : BANG



b) Chlorure stanneux : WEIL

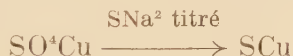


3° *Formation de sel neutre* :

a) Sulfocyanate alcalin : ARNOLD



b) Monosulfure de sodium : MAUMÈNE



4° *Formation d'un cyanure complexe* : BERNARD



Par Colorimétrie

5° SIDERSKY

Par gravimétrie

6° *A l'état de cuivre* :

par électrolyse : TARULLI et MAMELLI-CUBEDDU

7° *A l'état de sulfocyanate cuivreux* : SALKOWSKY

B. — LA MÉTHODE DE FEHLING

Liquueur A :

Sulfate cuivrique ($\text{SO}^4\text{Cu}, 5\text{H}^2\text{O}$)	35 gr.
Acide sulfurique pur	5 cc.
Eau distillée q.s.p.	1000 cc.

Liquueur B :

Sel de Seignette	150 gr.
Lessive de soude pure non carbo- natée à 36° B	300 cc.
Eau distillée q.s.p.	1000 cc.

Les deux solutions sont mélangées volume à volume au moment de l'emploi. On obtient ainsi une liqueur empirique, dont 1000 cc. correspondent sensiblement à 5 gr. de glucose. (L'expérience apprend en effet que, dans les conditions d'emploi, une molécule de glucose réduit complètement 5 molécules de sulfate de cuivre cristallisé). Cette liqueur doit être titrée au préalable par rapport à une solution étalon de glucose ou du sucre que l'on veut doser ; le pouvoir réducteur variant avec la nature de celui-ci.

Le dosage s'opère sur 20 cc. du mélange à parties égales de solution A et de solution B. On ajoute quelques fragments de pierre ponce et on porte à l'ébullition que l'on maintient constante pendant tout le dosage. On ajoute la solution sucrée, contenue dans une burette graduée par 3 ou 4 gouttes au plus, à la fois, en rétablis-

sant l'ébullition après chaque addition. Après avoir ainsi versé 3 à 4 cc. de solution sucrée, on peut verser celle-ci par 5 ou 6 gouttes à la fois en rétablissant aussitôt l'ébullition. Vers la fin, quand la coloration est légèrement bleutée, on verse seulement goutte à goutte. Le virage final est apprécié par la décoloration exacte de la couche surnageant le précipité d'oxydure cuivreux rouge.

Du nombre de cc. de solution sucrée versée et connaissant le titre de la liqueur de Fehling, on déduit la teneur en sucre de la solution dosée.

Ce dosage n'est pas rigoureux. Comme toutes les méthodes utilisant un réactif cupro-alcalin, celle-ci est justiciable des critiques de SOXHLET. Pour obtenir les meilleurs résultats, de nombreuses précautions sont à observer.

1° La liqueur de Fehling doit toujours avoir été titrée par rapport au sucre que l'on se propose de doser.

2° La dilution de la solution sucrée doit se rapprocher sensiblement de la concentration de la solution étalon employée pour le titrage, ce qu'un essai préliminaire apprendra.

3° La solution en expérience doit être neutre ou très légèrement alcaline, ou très légèrement acide pour ne pas trop modifier l'alcalinité du milieu réactionnel.

4° Elle ne doit pas renfermer de sels ammoniacaux qui empêchent la précipitation de Cu^2O .

5° De toute façon, il est nécessaire de conduire le titrage le plus rapidement possible, pour éviter que la

liqueur cupro-alkaline ne puisse à aucun moment se réoxyder au contact de l'air.

6° Enfin dans certaines conditions, en particulier quand l'addition des liqueurs sucrées, au réactif bouillant est trop brutale, il se produit un refroidissement local du liquide trop considérable ; au lieu d'oxyde cuivreux anhydre, cristallin, rouge, lourd et cohérent, rapidement entraîné au fond du vase on obtient un précipité d'oxyde cuivreux hydraté, amorphe, jaune et ténu qui reste longtemps en suspension dans le liquide dont il masque la coloration véritable.

C'est dans le but d'éliminer cette cause d'erreur et par conséquent de faciliter la lecture du virage final que CAUSSE et BONNANS proposèrent la méthode suivante.

C. — LA MÉTHODE DE CAUSSE-BONNANS

Principe : Dissoudre au fur et à mesure de sa formation, l'oxydure de cuivre au moyen de ferrocyanure de potassium ajouté à la liqueur de Fehling.

Dans ces conditions, on constate seulement que, sous l'influence des affusions successives de solution sucrée, la couleur bleue du liquide va d'abord en s'affaiblissant pour faire place à une teinte verte puis jaune ; puis brusquement, par addition d'une ou deux gouttes de liquide sucré, il se forme une coloration brune ou rouge brun assez intense qui indique la fin de la réaction.

La présence de ferrocyanure dans le milieu réactionnel n'a pas seulement pour effet de dissoudre l'oxydure

cuivreux ; elle modifie sensiblement la réaction même de réduction. On constate en effet que le pouvoir réducteur des sucres est supérieur à ce qu'il est vis-à-vis de la liqueur de Fehling ordinaire, dans le rapport 100/82. On pourrait donc dans une certaine mesure, se contenter de modifier le titre de la liqueur de Fehling dans ce même rapport ; mais il est préférable de procéder au titrage préalable du réactif ferrocyanuré avec le même sucre que l'on se propose de doser.

Des deux méthodes que nous venons de décrire, celle de FEHLING donne les résultats se rapprochant le plus de la réalité. Les erreurs ainsi obtenues sont de 1 à 2 %, tandis que celles données par le procédé de CAUSSE-BONNANS sont de l'ordre de 3 %.

Si ces techniques sont pratiques et suffisantes pour les besoins de la clinique, les résultats qu'elles donnent n'ont pas la rigueur de ceux fournis par la méthode de BERTRAND.

D. — LA MÉTHODE DE BERTRAND

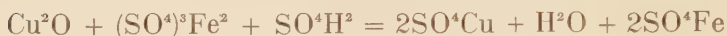
Principe : La méthode de BERTRAND [28] met en œuvre un excès de réactif cupro-alkalin et dose par man-ganimétrie l'oxydule de cuivre formé, après l'avoir isolé.

Elle est applicable dans des conditions bien déterminées de concentration, de température et de temps ; elle limite donc au minimum les causes d'erreurs.

L'expérience prouve qu'il se forme alors de l'oxydule

de cuivre en quantité croissante avec la teneur en sucre réducteur renfermée dans la prise d'essai, sans qu'il y ait, toutefois, une proportionnalité rigoureuse.

Si, après avoir recueilli et lavé cet oxydule, on le traite par une solution acide de sulfate ferrique, une partie de celui-ci est réduite par l'oxydule et passe à l'état ferreux suivant l'équation :



Le sulfate ferreux formé évalué facilement par manimétrie, permet de calculer la quantité de cuivre correspondante, suivant l'équation ci-dessus ; des tables établies par BERTRAND donnent la correspondance en sucre.

On aperçoit dès maintenant le point critique de ce dosage : il faut éviter la *réoxydation* de Cu^2O au contact de l'air en oxyde cuivrique CuO qui n'est pas réducteur vis-à-vis du sulfate ferrique.

TECHNIQUE

Solutions nécessaires :

Une solution cuivrique : SO^4Cu Crist. 40 gr.[°] ; SO^4H^2 pur 5 cc.. Eau q.s.p. 1000 cc.

Une solution sodique : sel de Seignette 200 gr. ; Soude caustique 150 gr., Eau q.s.p. 1000 cc.

Une solution ferrique : Sulfate ferrique (persulfate ferrique exempt de nitrate) 50 gr. ; acide sulfurique 200 cc., Eau q.s.p. 1000 cc.

Cette solution ne doit pas réduire le permanganate. En ajouter quelques gouttes jusqu'à légère coloration rose.

Une solution permanganique : Permanganate de K
5 gr. ; eau q.s.p. 1000 cc.

Cette dernière solution a besoin d'être titrée exactement et vérifiée car elle est altérable.

BERTRAND la titre à l'oxalate d'ammoniaque, en milieu acide au lieu de la titrer par rapport au fer. Le sel d'ammonium, en effet, n'est ni efflorescent, ni hygroscopique et il est très facile de se le procurer à l'état pur. On peut la titrer aussi par iodométrie.

Dosage proprement dit :

Opérer dans un erlenmeyer sur un volume de 20 cc. de solution sucrée qui doivent renfermer de 10 à 90 mgr. de glucose au plus, ce qui est très important. (Si la prise d'essai était trop riche en sucre, on prendrait moins de 20 cc. et on compléterait à ce volume avec de l'eau distillée).

Ajouter 20 cc. de liqueur cuivrique ; 20 cc. de liqueur sodique. Chauffer jusqu'à l'ébullition, que l'on maintient modérée pendant *trois minutes exactement*. Retirer l'erien du feu. Laisser déposer un instant l'oxydure de cuivre.

Le liquide surnageant doit être franchement bleu, sinon recommencer avec une prise d'essai plus faible.

Décanter ce liquide sur un filtre en amiante préparé à l'avance. (On peut employer, ce qui est d'ailleurs préférable, un creuset filtrant en verre fritté d'Iena) en entraî-

nant le moins possible d'oxydure. Le liquide filtré ne doit pas contenir la moindre parcelle de Cu^2O .

Laver l'oxydure resté dans l'erlenmeyer et celui qui aura pu être entraîné sur le filtre, avec de l'eau distillée bouillie et chaude. On devra toujours afin d'éviter toute oxydation de l'oxydure maintenir celui-ci sous une couche d'eau.

A ce moment l'oxydure de cuivre est séparé de l'excès de liqueur cupro-sodique qu'il est inutile de conserver. Placer au-dessous du filtre l'erlen dans lequel s'est opérée la réduction et contenant la majeure partie du Cu^2O .

Reprendre l'oxydure de cuivre resté dans le vase où s'est effectuée la réduction par 10 cc. environ de liqueur ferrique ; cette liqueur dissout l'oxydure de cuivre en donnant une solution verte.

Verser sur le filtre 10 cc. environ de liqueur ferrique que l'on fait écouler dans le même vase.

Doser le sulfate ferreux dans la solution verte obtenue au moyen de la solution titrée de permanganate de K à 5 % dont 1 cc. = 0,22378 gr./n en cuivre (généralement 0,01 gr.) (n étant le nombre de cc. de MnO^4K à 5 % versés pour décomposer pendant le titrage de la solution permanganique, 0,25 gr. d'oxalate d'ammonium pur en milieu acide).

Ncc pour passage du vert au rose.

$(0,22378 : n) \times N =$ cuivre réduit par le sucre réducteur contenu dans la prise d'essai.

Connaissant ainsi la quantité de cuivre, l'exprimer en mgr. et consulter les tables de BERTRAND. On trouvera

en face du poids de cuivre la quantité de sucre réducteur correspondant.

(Le tableau III est la reproduction des tables de BERTRAND).

TABLEAU III

*Tableau de Bertrand,
pour la correspondance entre le poids de cuivre
et de sucre réducteur.*

GLUCOSE OU LEVULOSE

Sucre mgr.	Cu mgr.	Sucre mgr.	Cu mgr.	Sucre mgr.	Cu mgr.	Sucre mgr.	Cu mgr.
10....	20,4	33....	64,6	56....	105,8	79....	144,5
11....	22,4	34....	66,5	57....	107,6	80....	146,1
12....	24,3	35....	68,3	58....	109,3	81....	147,7
13....	26,3	36....	70,1	59....	111,1	82....	149,3
14....	28,3	37....	72,0	60....	112,8	83....	150,9
15....	30,2	38....	73,8	61....	114,5	84....	152,5
16....	32,2	39....	75,7	62....	116,2	85....	154,0
17....	34,2	40....	77,5	63....	117,9	86....	155,6
18....	36,2	41....	79,3	64....	119,6	87....	157,2
19....	38,1	42....	81,1	65....	121,3	88....	158,8
20....	40,1	43....	82,9	66....	123,0	89....	160,4
21....	42,0	44....	84,7	67....	124,7	90....	162,0
22....	43,9	45....	86,4	68....	126,4	91....	163,6
23....	45,8	46....	88,2	69....	128,1	92....	165,2
24....	47,7	47....	90,0	70....	129,8	93....	166,7
25....	49,6	48....	91,8	71....	131,4	94....	168,3
26....	51,5	49....	93,6	72....	133,1	95....	169,9
27....	53,4	50....	95,4	73....	134,7	96....	171,5
28....	55,3	51....	97,1	74....	136,3	97....	173,1
29....	57,2	52....	98,9	75....	137,9	98....	174,6
30....	59,1	53....	100,6	76....	139,6	99....	176,2
31....	60,9	54....	102,3	77....	141,2	100....	177,8
32....	62,8	55....	104,1	78....	142,8		

SUCRE INTERVERTI

Sucre mgr.	Cu mgr.	Sucre mgr.	Cu mgr.	Sucre mgr.	Cu mgr.	Sucre mgr.	Cu mgr.
10....	20,6	33....	64,8	56....	105,7	79....	143,7
11....	22,6	34....	66,7	57....	107,4	80....	145,7
12....	24,6	35....	68,5	58....	109,2	81....	146,9
13....	26,5	36....	70,3	59....	110,9	82....	148,5
14....	28,5	37....	72,2	60....	112,6	83....	150,0
15....	30,5	38....	74,0	61....	114,3	84....	151,6
16....	32,5	39....	75,0	62....	115,9	85....	153,2
17....	34,5	40....	77,7	63....	117,6	86....	154,8
18....	36,4	41....	79,5	64....	119,2	87....	156,4
19....	38,4	42....	81,2	65....	120,9	88....	157,9
20....	40,4	43....	83,0	66....	122,6	89....	159,5
21....	42,3	44....	84,8	67....	124,2	90....	161,1
22....	44,2	45....	86,5	68....	125,9	91....	162,6
23....	46,1	46....	88,3	69....	127,5	92....	164,2
24....	48,0	47....	90,1	70....	129,2	93....	165,7
25....	49,8	48....	91,9	71....	130,8	94....	167,3
26....	51,7	49....	93,6	72....	132,4	95....	168,8
27....	53,6	50....	95,4	73....	134,0	96....	170,3
28....	55,5	51....	97,1	74....	135,6	97....	171,9
29....	57,4	52....	98,8	75....	137,2	98....	173,4
30....	59,3	53....	100,6	76....	138,9	99....	175,0
31....	61,1	54....	102,3	77....	140,5	100....	176,5
32....	63,0	55....	104,0	78....	142,5		

LACTOSE ANHYDRE

Sucre mgr.	Cu mgr.	Sucre mgr.	Cu mgr.	Sucre mgr.	Cu mgr.	Sucre mgr.	Cu mgr.
10....	14,4	18....	25,6	26....	36,6	34....	47,4
11....	15,8	19....	27,9	27....	38,0	35....	48,7
12....	17,2	20....	28,4	28....	39,4	36....	50,1
13....	18,6	21....	29,8	29....	40,7	37....	51,4
14....	20,0	22....	31,1	30....	42,1	38....	52,6
15....	20,4	23....	32,5	31....	43,4	39....	54,1
16....	22,8	24....	33,9	32....	44,8	40....	55,4
17....	24,2	25....	35,2	33....	46,1	41....	56,7

Sucre mgr.	Cu mgr.	Sucre mgr.	Cu mgr.	Sucre mgr.	Cu mgr.	Sucre mgr.	Cu mgr.
42....	58,0	57....	77,5	72....	96,6	87....	115,4
43....	59,3	58....	78,8	73....	97,9	88....	116,6
44....	60,6	59....	80,1	74....	99,1	89....	117,9
45....	61,9	60....	81,4	75....	100,4	90....	119,1
46....	63,3	61....	82,7	76....	101,7	91....	120,3
47....	64,6	62....	83,9	77....	102,9	92....	121,6
48....	65,9	63....	85,2	78....	142,5	93....	122,8
49....	67,2	64....	86,5	79....	105,4	94....	124,0
50....	68,5	65....	87,7	80....	106,7	95....	125,2
51....	69,8	66....	89,0	81....	107,9	96....	126,5
52....	71,1	67....	90,3	82....	109,2	97....	127,7
53....	72,4	68....	91,6	83....	110,2	98....	128,9
54....	73,7	69....	92,8	84....	111,7	99....	130,2
55....	74,9	70....	94,1	85....	112,9	100....	131,4
56....	76,2	71....	95,4	86....	114,1		

Critique : La méthode de BERTRAND que nous venons d'exposer dans le détail représente actuellement la méthode type du dosage des sucres réducteurs. C'est elle qui donne les résultats les plus exacts. Les erreurs, pour des quantités de glucose comprises entre 10 et 90 mgr. ne dépassent pas 1 %.

Mais pour obtenir des chiffres corrects, il faut éviter la réoxydation de l'oxydule, ce qui n'est pas toujours facile, surtout lorsque l'on veut déterminer la teneur en glucose de liquides de défécation, contenant encore des produits organiques non précipités, qui fournissent, dans ce cas, un oxydule jaune presque colloïdal et tapisant les côtés et le fond du vase. En outre, elle exige une solution de sulfate ferrique et une solution titrée de permanganate.

La méthode que nous proposons, tout en gardant la précision de celle de BERTRAND, ne fait plus entrer en ligne de compte la réoxydation de l'oxydure et n'exige que les solutions courantes de soude et d'acide sulfurique N/10.

Elle utilise le dosage du cuivre basé sur les virages différentiels de deux indicateurs colorés.

CHAPITRE III

Les travaux de H. Lescœur

En 1897, H. LESCOEUR [30] présentait à la Société Chimique de Paris une série de mémoires ; entre autres, une étude sur les indicateurs colorés.

Il signale en outre plusieurs dosages alcalimétriques des métaux : Magnésium, Zinc, Plomb, Aluminium, Fer et Cuivre, tous basés sur les propriétés différentielles de deux indicateurs colorés, l'héliantine et la phtaléine du phénol.

Des travaux de LESCOEUR, nous ne présenterons que ceux qui ont servi de base à la mise au point de notre méthode ; c'est-à-dire surtout le principe du dosage du cuivre.

Le virage des indicateurs colorés.

« *L'héliantine* (Orangé Poirier 3) est une matière colorante sensiblement incolore en milieu alcalin ou neutre,

mais devenant rouge en présence des acides libres. Si, dans une solution d'un oxyde métallique avec un acide en excès, on verse un alcali en présence de l'héliantine, le milieu est d'abord coloré en rose, puis le virage au jaune se produit quand tout l'acide libre est saturé. C'est ensuite seulement que commence la précipitation. Cet indicateur signale donc *le passage de l'acidité à la neutralité*. Les signes qu'il fournit sont absolument opposés à ceux de la phtaléine ».

« *La phtaléine du phénol* est une matière incolore donnant avec les alcalis des composés rouges. Dans un milieu contenant une base insoluble et un acide en excès, si on verse un alcali, en présence de la phtaléine, la solution sera d'abord incolore par la présence d'un acide libre, celui-ci étant neutralisé et l'oxyde se précipitant, elle demeurera encore incolore et le virage au rouge n'aura lieu que lorsque la totalité de l'oxyde étant précipitée, le milieu contiendra de l'alcali en excès. La phtaléine par son virage, signale donc, non le passage de l'acidité à l'alcalinité, mais *le passage de la neutralité à l'alcalinité* ».

« En combinant les données de ces deux matières colorantes, la notion de neutralité prend un caractère de grande netteté. La coloration rouge de la phtaléine indiquant la présence d'un alcali libre, la coloration rose de l'héliantine indiquant la présence d'un acide libre, on réservera le terme de neutre pour l'état d'un milieu tel que d'une part, l'héliantine demeure incolore, et que d'autre part, la phtaléine demeure aussi incolore ».

Emploi de l'héliantine.

On peut, avec l'héliantine, et au moyen d'une liqueur acide titrée, doser une base insoluble. Le virage s'effectue au moment où, toute la base étant saturée, une certaine quantité d'acide en excès se répand dans le milieu. Ce procédé est celui qui sert au dosage des alcalis ; mais il est ici moins recommandable. En effet, la dissolution de la base insoluble par l'acide n'est pas instantanée.

Chaque addition d'acide est suivie de l'acidité momentanée du milieu et produit la coloration rouge de l'indicateur ; par l'agitation et au bout de quelque temps le milieu redevient neutre et la coloration disparaît. C'est seulement quand la coloration est définitive que l'acidité est atteinte. En pratique, le terme est assez difficile à reconnaître.

Il est plus avantageux de procéder indirectement en employant la méthode par retour. La base est dissoute dans un volume connu d'acide titré en excès et, la dissolution opérée, on revient à la neutralité en versant une solution alcaline exactement équivalente. Le volume d'acide, diminué du volume d'alcali employé, représente la base.

Emploi de la Phtaléine.

Il est impossible, avec la phtaléine, d'opérer de la même façon, cet indicateur n'étant pas modifié par le passage de l'état neutre du milieu à l'état acide, mais il permet de procéder d'une façon inverse, en versant une

solution alcaline dans un sel neutre dissous et de saisir le moment où la précipitation de la base insoluble est complète. C'est alors seulement que cet indicateur vire au rouge. Si donc on opère avec une liqueur titrée, on obtient très aisément l'oxyde contenu dans la solution neutre.

Emploi des deux indicateurs.

Si l'on emploie simultanément les deux indicateurs, la méthode prend un caractère de grande généralité. Elle comprend alors, comme cas particulier, les deux procédés qui viennent d'être décrits.

Le milieu peut renfermer une base métallique et un acide en excès. On verse alors goutte à goutte la liqueur alcaline. La décoloration de l'héliantine se produit au moment où l'acide libre se trouve saturé. Ensuite a lieu la précipitation de la base en milieu sensiblement incolore et enfin la coloration de la phtaléine au moment où un excès d'alcali se répand dans la solution. La quantité de liqueur alcaline titrée, versée entre les deux virages correspond à l'oxyde en solution et permet d'en calculer le poids.

Exemple : Dosage de l'alumine contenue dans une solution acide de sulfate d'alumine.

50 cc. ont été précipités par l'ammoniaque et ont donné 0 gr. 150 d'alumine ;

50 cc. ont été additionnés de 2 gouttes d'héliantine. Puis on verse l'alcali normal. Le virage de l'orangé a

lieu quand on a ajouté 20,9 cc. On a mis alors une goutte de phtaléine et l'on a continué l'addition d'alcali. Le virage de la phtaléine a eu lieu à 30 cc. La différence entre les deux virages est 9,1 cc. ce qui représente 0 gr. 155 d'alumine. (Expérience empruntée à LESCOEUR).

« Au titrage par virage direct de la phtaléine sous l'action de la liqueur alcaline titrée, il est parfois avantageux de substituer le procédé en retour, qui consiste à ajouter d'emblée un volume connu d'alcali en excès et à revenir à la neutralité au moyen de l'acide titré, après ébullition et filtration, s'il y a lieu.

L'ébullition est nécessaire quand les bases ont de la tendance à former des sous-sels peu solubles, qui se précipitent avant la saturation complète. Pour détruire ces sous-sels le contact à froid d'un excès d'alcali ne suffit pas toujours, tel est le cas des sels de bismuth, qui exigent une ébullition prolongée.

La filtration convient quand le précipité est coloré et masque par sa couleur propre, la couleur de l'indicateur : c'est le cas du fer, du cuivre, de l'argent, etc... En usant de solutions étendues et avec un peu d'habitude, on arrive dans presque tous les cas à distinguer le virage malgré la coloration du milieu. Il est donc rarement indispensable d'avoir recours à la filtration. »

Les développements qui précèdent suffisent à établir les principes et la théorie de la méthode que nous avons voulu appliquer au dosage du cuivre, nous n'avons pas cherché à établir une méthode générale de dosage de l'ion Cu, mais simplement à mettre au point un dosage

pouvant être appliqué à la saccharimétrie. La méthode dont nous allons préciser la technique n'est valable que pour des solutions pures de cuivre. Tous nos dosages ont été effectués en nous plaçant dans les conditions qui nous seraient imposées ultérieurement par le dosage des sucres réducteurs.

Deuxième Partie

RECHERCHES PERSONNELLES

CHAPITRE PREMIER

Le dosage du cuivre selon la méthode des deux indicateurs

Le principe de cette méthode nous a été indiqué par les travaux de H. LESCOEUR que nous venons d'étudier. Nous en rappellerons brièvement les conclusions.

Si dans une solution acide d'un sel cuivrique contenant quelques gouttes d'héliantine et quelques gouttes de phtaléine, on ajoute une solution alcaline, il se produit dans l'ordre :

- 1° Le virage du rouge au jaune de l'héliantine.*
- 2° La précipitation du cuivre à l'état d'hydrate insoluble.*
- 3° Le virage de la phtaléine au violet indiquant que tout le cuivre est précipité.*

La quantité de soude versée entre le virage de l'héliantine et le virage de la phtaléine est proportionnelle à la quantité de cuivre.

Le virage de la phtaléine est apprécié par retour après addition d'un excès de soude. Cet excès est dosé au moyen d'un acide.

TECHNIQUE DÉTAILLÉE :

RÉACTIFS NÉCESSAIRES :

1° Soude N/10.

2° Acide sulfurique N/10.

3° Héliantine en solution aqueuse à 0,20 %.

4° Phénolphtaléine en solution alcoolique à 2 %.

Tous nos essais ont été effectués à partir d'une solution contenant 10 gr. de cuivre électrolytique pur dissous dans l'acide azotique, le volume étant complété à 1.000 cc.

Notre technique n'est valable que pour des doses de cuivre comprises entre 20 et 200 mgr., c'est-à-dire, en nous plaçant dans les conditions imposées par l'application de cette méthode au dosage des sucres réducteurs. La prise d'essai de sucre étant dans ce cas de 10 à 100 mgr. qui réduisent sensiblement de 20 à 180 mgr. de cuivre.

1° *Neutralisation de la solution. Virage de l'héliantine.*

La solution cuivrique, d'un volume de 20 à 30 cc. est versée dans un erlenmeyer. Cette solution doit être légèrement acide.

On y ajoute II gouttes d'héliantine, II gouttes de phtaléine. La solution est alors colorée en rouge par l'héliantine.

On ajoute de la soude N/10 jusqu'à virage de l'héliantine au jaune citron.

Le volume de soude ainsi ajouté nous importe peu, car le dosage proprement dit ne commence qu'à partir de la neutralisation du milieu à l'héliantine. (Si l'acidité de la liqueur était trop forte, la neutralisation à l'héliantine nécessiterait un très grand volume de soude N/10, pour remédier à cet inconvénient on peut neutraliser au moyen de soude plus concentrée (OHNa N/1).

Le point important est de s'arrêter au virage *exact* de l'héliantine (rappelons que la coloration de l'héliantine doit toujours être observée en lumière indirecte).

2° Précipitation du cuivre à l'état d'hydrate. Virage direct de la phtaléine.

Dosage proprement dit. — Mettre au zéro la burette contenant la soude N/10.

Laisser tomber cette soude titrée dans l'erlen contenant la solution cuivrique neutre à l'héliantine.

La soude précipite, suivant la réaction ci-dessous, l'hydrate de cuivre vert pomme, gélatineux.



Lorsque tout le métal est précipité, la phtaléine vire au violet sous l'influence d'un léger excès de soude. L'expérience prouve que ce virage direct de la phtaléine se produit avant que l'on ait ajouté la quantité théorique

de soude, calculée d'après la réaction ci-dessus. Ce virage d'autre part, est incertain.

Voici ce que signale LESCOEUR à ce propos :

« Une autre cause d'erreur provient de ce que le précipité formé par l'alcali dans les solutions de sels métalliques n'est pas toujours de l'oxyde pur ; mais emprisonne souvent une certaine quantité de sel non décomposé ou d'un sous-sel.

Celui-ci se trouvant à l'état insoluble ou peu soluble sort du champ de la réaction. Mais au bout d'un instant la dissolution du sel non décomposé s'effectuant lentement, le milieu redevient neutre et la coloration rouge disparaît. Cette cause d'erreur est d'autant plus importante que l'on opère en solutions plus concentrées. Elle disparaît en solutions suffisamment étendues ».

Cette cause d'erreur peut être annulée en décomposant le sel basique de cuivre formé, par un excès de soude et en effectuant le virage en retour au moyen d'un acide titré. Mais en opérant à *froid* nous n'avons jamais pu obtenir une décomposition totale des sels basiques formés ; quel que soit l'excès de soude, et quel que soit le temps de contact.

D'autre part le virage par retour est très difficile à apprécier par suite de la présence de l'hydrate gélatineux qui ne se décante pas et dont l'opacité masque la coloration du liquide.

Nous opérons donc à *chaud* ; après addition d'un excès de soude, nous portons à l'ébullition.

Sous l'influence de la chaleur et de l'excès de réactif, les sels basiques de cuivre sont détruits rapidement.

Tout le cuivre passe à l'état de $\text{Cu}(\text{OH})^2$. De plus cet hydrate vert devient brun noir par déshydratation au sein même de l'eau. Dans ce cas comme dans le précédent l'opacité du milieu due à la coloration brune cette fois du précipité, nous empêche de faire la lecture du virage sur la couche surnageante, d'où obligation de filtrer.

Cette filtration doit-être rapide pour éviter toute carbonatation de l'excès de soude.

Pour cela on projette le contenu de l'erlenmeyer sur un filtre plissé ordinaire de capacité suffisante. La filtration ainsi obtenue est grossière mais cela ne présente aucun inconvénient car l'acide ajouté ultérieurement n'agit pas sur l'hydrate qui a pu passer à travers le filtre, ceci tout au moins jusqu'au virage en retour de la phtaléine.

De l'excès de soude. — L'excès de soude à ajouter après le virage direct de la phtaléine, afin de détruire les sels basiques, ne doit pas être quelconque.

Il ne doit pas être trop faible : les sous sels ne seraient pas détruits entièrement.

Il ne doit pas être trop fort : La fixation du CO^2 de l'air étant d'autant plus rapide que la teneur en alcali est plus forte ; ce qui serait une cause d'erreur par excès dans le virage par retour.

Détermination de l'excès de soude à ajouter. — Les résultats de nos expériences, résultats que nous exposons dans le tableau IV nous ont montré que le virage direct de la phtaléine se produisait après avoir ajouté une quantité de soude sensiblement égale aux $4/5$ de la

quantité de soude théorique nécessaire pour précipiter le cuivre de la prise d'essai à l'état d'hydrate $\text{Cu}(\text{OH})^2$

TABLEAU IV

CUIVRE de la prise d'essai (en mgr.)	Quantité théorique de Soude N/10 néces- saire pour précipiter Cu à l'état de $\text{Cu}(\text{OH})^2$ (en cc.)	Les 4/5 de cette quantité de Soude représentent (en cc.)	Soude N/10 en cc. versée pour obtenir le virage direct de la phtaléine; = X.
20	6,20	5,00	5,50
40	12,60	10,05	10,50
50	15,74	12,60	13,20
80	25,20	20,15	20,00
100	31,50	25,20	25,50
150	47,25	37,75	38,50
180	56,70	45,35	44,50
200	63,00	50,50	51,50

L'expérience nous a prouvé d'autre part, que si, après le virage direct de la phtaléine nous ajoutons un excès de soude égal au $1/3$ de la quantité déjà versée nous obtenons dans tous les cas un excès de soude suffisant pour décomposer les sels basiques à chaud. L'excès subsistant après la précipitation totale de Cu ne se carbonate pas de façon appréciable au cours de la filtration ultérieure.

Pour arriver au virage direct de la phtaléine nous avons versé dans la solution cuivrique X cc. de soude N/10. Nous en ajoutons donc encore un volume égal à $X/3$.

Nous avons donc versé au total $N = X + X/3$.

3° *Décomposition des sels basiques. Dosage par retour.*

On porte alors l'erlenmeyer sur une toile métallique et on chauffe en agitant de temps en temps jusqu'à la température de l'ébullition. Les sels basiques sont détruits, et tout le cuivre passe à l'état d'hydrate brun noir. On retire du feu et on fait passer le contenu de l'erlenmeyer en une seule fois, sur un filtre plissé ordinaire pour que la filtration soit rapide.

Le filtre et le vase sont lavés avec un peu d'eau bouillante.

On recueille le filtrat qui doit être violet, coloration due à la phtaléine en présence d'un léger excès de soude.

On dose cet excès par de l'acide sulfurique N/10 jusqu'à décoloration de la phtaléine.

Soit P le nombre de cc. d'acide sulfurique N/10 versé.

Sachant que 1 cc. de OHNa N/10 correspond à 3,175 mgr. de cuivre, $(N - P) \times 3,175$ exprime en mgr. la quantité de cuivre contenue dans la prise d'essai.

Exemple : Le virage direct de la phtaléine s'est produit après avoir ajouté à la liqueur 13,2 cc. de soude N/10.

Nous avons encore ajouté $13,2/3$, soit 4,4 cc. de soude N/10.

Soit au total : $13,2 + 4,4 = 17,6$ cc. de soude N/10 : soit N.

Pour le dosage en retour de l'excès de soude nous avons utilisé 1,8 cc. d'acide sulfurique N/10.

$$(17,6 - 1,8) \times 3,175 = 50,1 \text{ mgr. de cuivre.}$$

*Résultats obtenus
au moyen de la technique que nous venons d'exposer.*

Le tableau V rend compte des dosages que nous avons effectués à partir d'une solution titrée contenant 10 gr. pour 1000 cc. de cuivre pur. Le titre en cuivre a été vérifié par dosage pondéral de Cu à l'état de CuO.

TABLEAU V

CU de la prise d'essai (en mgr.)	Résultats obtenus par le dosage selon la méthode des deux indicateurs	Moyenne	Erreur %
20	20,3 - 20,1 - 20,2	20,1	+ 0,5
40	40,3 - 40,2 - 40,3	40,26	+ 0,65
50	50,1 - 50,1 - 50,0	50,06	+ 0,12
80	79,7 - 79,8 - 79,7	79,4	— 0,50
100	99,6 - 99,6 - 99,7	99,63	— 0,63
150	150,1 - 150,1 - 150,2	150,13	+ 0,08
180	179,4 - 179,6 - 179,5	179,5	— 0,27
200	199,1 - 199,0 - 199,3	199,13	— 0,07

Les erreurs obtenues ne dépassant pas 1 %, cette méthode est précise ; mais elle présente l'inconvénient de ne pouvoir s'appliquer qu'aux sels de cuivre en solution pure.

CHAPITRE II

Application au dosage du glucose et des sucres réducteurs en général

La méthode de dosage des sucres réducteurs que nous proposons utilise le réactif cupro-alcalin de BERTRAND, dont les conditions d'emploi : excès de réactif, concentration, et temps de chauffage sont parfaitement connues.

D'autre part, les solutions cuprique et tartrique de BERTRAND se conservent parfaitement et sont de composition telle (grande densité due à une forte proportion de soude) que l'oxyde cuivreux obtenu est très cohérent et se décante parfaitement. (À condition toutefois, que la solution sucrée ne contienne pas les substances que nous avons signalées comme perturbant la réaction de réduction, à savoir : dextrine, albumines, etc... D'où nécessité d'une bonne défécation préalable s'il y a lieu).

La réduction étant effectuée, nous séparons le précipité d'oxydure Cu^2O de l'excès de réactif par une des trois méthodes que nous proposons : filtration ordinaire sur papier filtre, ou au moyen du creuset filtrant en verre d'Iéna sans précaution spéciale, ou par centrifugation. Nous ne nous soucions en aucune façon de la réoxydation de l'oxydure.

Après avoir lavé cet oxydure, on le dissout dans l'acide azotique, de façon à obtenir une solution de nitrate de cuivre, où l'on dosera l'ion Cu par la méthode des deux indicateurs, que nous venons d'exposer.

Dissolution de Cu^2O .

Dans le traité de chimie minérale de Paul PASCAL [31], nous apprenons que les acides ClH , BrH , IH , transforment Cu^2O en sel de cuivre monovalent ; que les solutions d'iodures alcalins le dissolvent et acquièrent une réaction alcaline.

Aucun de ces procédés de dissolution ne nous a donné de bons résultats.

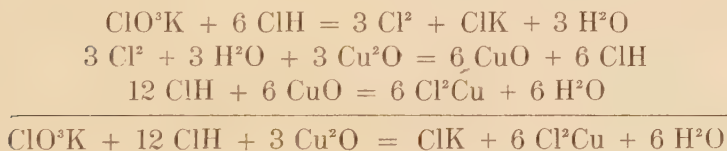
Les solutions étendues des acides FH , SO^4H^2 , NO^3H et PO^4H^3 , et des principaux acides organiques attaquent Cu^2O avec production d'un sel de cuivre bivalent, qui se dissout, et de cuivre métallique, qui forme un dépôt rouge pulvérulent. Ces acides dilués ne peuvent pas non plus être employés comme dissolvant.

Les acides concentrés se comportent d'abord comme leurs solutions diluées, puis ils attaquent le cuivre selon leur mode habituel.

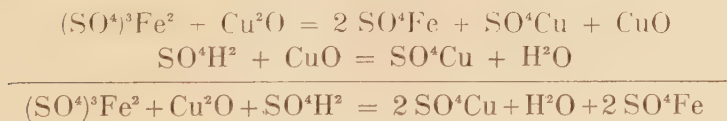
Nous avons employé l'acide azotique concentré, mais les résultats obtenus furent médiocres. L'attaque de Cu^2O n'est pas immédiate, NO^3H se trouvait toujours, la dissolution opérée en trop grand excès ; il en résultait une grande acidité de la liqueur : l'héliantine était décomposée, et il était alors nécessaire de chasser au préalable l'excès d'acide azotique.

Nous avons obtenu des résultats parfaits, en nous basant sur le principe de la dissolution de l'oxydure par un acide en présence d'un oxydant.

Nous avons opéré par analogie avec le procédé de dissolution employé par SIDERSKY [29] : ClH normal + ClO^3K suivant la réaction théorique :



BERTRAND emploie le sulfate ferrique sulfurique dans lequel Cu^2O se dissout instantanément :



Ces auteurs emploient donc un oxydant comme adjuvant d'un acide.

Dans notre cas particulier, et à cause du dosage alcalimétrique final exigeant une solution pure de sel cuivrique, nous ne pouvions utiliser aucun de ces oxy-

dants ; nous avons alors songé à employer pour la dissolution de Cu^2O , un mélange d'eau oxygénée et d'acide azotique dilué (N/1). L'acide dilué, plus maniable que l'acide concentré attaque très lentement Cu^2O , mais nous avons pu constater qu'en présence d'eau oxygénée la dissolution était immédiate.

Nous nous sommes demandé quel était le mécanisme de cette réaction. Sans aucun doute, l'eau oxygénée oxyde d'abord l'oxydure à l'état d'oxyde qui se dissout dans l'acide azotique, suivant les réactions :



Nous avons pu constater en effet : que, au cours de la réaction, il y avait bien dégagement d'oxygène (absorption par le pyrogallate de potasse) et d'autre part, en mesurant la quantité d'acide azotique nécessaire pour la dissolution complète, nous avons trouvé un chiffre correspondant à la quantité théorique calculée d'après l'équation (2).

Prenons en effet une quantité d'oxydure légèrement supérieure à celle que l'on obtient en se plaçant à la limite maximum du dosage des sucres ; correspondant par exemple à 200 mgr. de cuivre. L'oxydure étant recueilli dans un tube à centrifuger, on verse sur ce culot 2,5 cc. d'eau oxygénée officinale à 10 volumes. Remuer avec le bout d'un agitateur pendant quelques secondes ; on verse alors de l'acide azotique N/1 jusqu'à dissolution, tout en agitant.

Celle-ci est complète lorsque l'on a versé 6,2 cc. de NO^3H N/1, ce qui correspond exactement à la quantité d'acide azotique nécessaire pour dissoudre l'oxydule ; quantité calculée d'après la réaction :



Si NO^3H dissolvait directement Cu^2O , il faudrait, calculé d'après la réaction :



7,3 cc. de NO^3H N/1. C'est-à-dire une quantité d'acide azotique plus grande que celle réellement employée en présence d'eau oxygénée.

Nous ne notons aucun dégagement de vapeurs nitreuses.

Cependant les équations précédentes ne traduisent pas complètement la réalité des faits observés. En effet, l'eau oxygénée seule, n'oxyde l'oxydule rouge en oxyde noir que très lentement, alors que cette oxydation est pratiquement instantanée (ainsi que la dissolution de l'oxyde produit) en présence d'acide azotique.

L'eau oxygénée est décomposée au cours de la réaction avec dégagement d'oxygène et elle disparaît complètement du milieu si elle n'est pas en quantité suffisante. (Vérifié par la recherche de H^2O^2 par la réaction à l'acide perchromique).

Si l'eau oxygénée n'est pas en quantité suffisante, même en présence de la quantité suffisante d'acide azotique, il reste un résidu non solubilisé de Cu^2O , et on ne retrouve pas d'eau oxygénée dans le liquide.

Il semble donc vraisemblable d'admettre que les deux réactifs jouent vis-à-vis l'un de l'autre le rôle de catalyseurs et d'activateurs. Nous pouvons schématiser ainsi la réaction :

Oxydule + H_2O^2 = pas d'oxydation ou oxydation très lente.

Oxydule + NO^3H = pas de dissolution.

Oxydule + H_2O^2 + NO^3H = Dissolution instantanée avec dégagement d'oxygène.

Nous opérons donc la dissolution de l'oxydule recueilli de la façon suivante : On ajoute 2,5 cc. d'eau oxygénée à 10 volumes (quantité nécessaire pour la dissolution de la quantité d'oxydule obtenue avec 110 mgr. de glucose) ; on agite quelques secondes, puis on verse lentement à la pipette de l'acide azotique N/1 jusqu'à dissolution complète, en agitant constamment. La dissolution de Cu_2O s'effectue au fur et à mesure de l'addition de NO^3H et la solution de nitrate de cuivre obtenue n'est que légèrement acide.

De l'influence de l'eau oxygénée en excès sur la précipitation de l'hydrate.

Par suite de la présence d'eau oxygénée dans la solution de nitrate de cuivre à doser, l'hydrate qui précipite sous l'action de la soude à froid n'est pas de couleur vert pomme, mais brun.

Le virage direct de la phtaléine n'est plus visible avec netteté. Afin de précipiter un hydrate vert il est facile de

détruire l'excès d'eau oxygénée par une courte ébullition.

Il n'est pas obligatoire de respecter ce temps pour obtenir des résultats exacts. Il est cependant préférable de l'effectuer pour la bonne marche des opérations.

Après avoir dissout Cu^2O et chassé l'excès d'eau oxygénée, nous obtenons une solution pure légèrement acide de nitrate de cuivre. Nous sommes ramenés au dosage de l'ion Cu par la méthode des deux indicateurs.

De la quantité de cuivre trouvée, on déduit la quantité de sucre réducteur contenu dans la prise d'essai en se rapportant aux tables de BERTRAND.

En résumé les essais précédents nous ont conduit à élaborer la technique suivante :

TECHNIQUE DU DOSAGE DES SUCRES RÉDUCTEURS

Principe : Par action d'une solution réductrice de glucose sur une liqueur cupro-alcaline, à l'ébullition, on obtient de l'oxydure de cuivre rouge Cu_2O . Cet oxydure recueilli est lavé, et dissous au moyen d'un réactif approprié acide ne contenant aucun sel métallique. On obtient une solution acide d'un sel cuivrique où l'on dose l'ion Cu par la méthode des deux indicateurs.

Réactifs nécessaires.

1° *Solution cuivrique de BERTRAND*, préparée selon la formule :

Sulfate de cuivre cristallisé	40 gr.
Acide sulfurique pur	5 cc.
Eau distillée (q.s.p.)	1000 cc.

2° *Solution sodique de BERTRAND*, préparée selon la formule :

Sel de Seignette	200 gr.
Soude caustique	150 gr.
Eau distillée (q.s.p.)	1000 cc.

3° Soude N/10.

4° Acide sulfurique N/10.

5° Héliantine en solution aqueuse à 0,20 %.

6° Phénol-phtaléine en solution alcoolique à 2 %

7° Eau oxygénée officinale à 10 volumes.

8° Acide azotique sensiblement N/1.

TECHNIQUE

Opérer dans un erlenmeyer de 300 cc.

La prise d'essai de glucose doit être contenue dans un volume de 20 cc. (Si besoin est, étendre à 20 cc.), et doit être comprise entre 10 et 90 mgr.

Ajouter : 20 cc. de solution cuivrique de BERTRAND.

20 cc. de solution sodique de BERTRAND.

Porter l'erlen sur une toile métallique, et chauffer jusqu'à l'ébullition que l'on maintiendra très modérée pendant *trois minutes* exactement. Retirer du feu ; laisser déposer l'oxydule.

Séparation de l'oxydule et solubilisation : 3 méthodes.

1^{re} méthode. — La plus pratique : *par centrifugation.*

Recueillir la totalité du contenu de l'erlen, liquide et oxydule dans un tube à centrifuger, en une ou plusieurs fois, selon la capacité du tube employé.

Laver l'oxydule deux fois. Décanter la dernière eau de lavage.

Diviser le culot de Cu^2O avec un agitateur puis ajouter : 2,5 cc. d'eau oxygénée à 10 volumes.

Agiter pendant quelques secondes, puis verser à la pipette de l'acide azotique N/1 jusqu'à dissolution complète, en agitant constamment. (Pour 100 mgr. de sucre, il faut 6,5 cc. d'acide azotique N/1).

Faire passer la solution de nitrate de cuivre obtenue dans un « erlen ».

2^e méthode. — *La plus rapide :* au moyen d'un creuset filtrant en verre d'Iéna.

Ce creuset filtrant sera monté sur un bouchon à deux trous, le deuxième trou laissant passer un tube pouvant être relié à une trompe à vide. Le bouchon sera d'un diamètre tel, qu'il pourra s'adapter successivement sur plusieurs « erlens » d'un même modèle.

Après avoir laissé déposer l'oxydule au fond de l'erlen, décarter la couche surnageante dans le creuset

filtrant, en entraînant le moins possible d'oxydule. Filtrer en s'aidant du vide. Laver l'oxydule contenu dans l'erlen, et celui qui a pu être entraîné sur le filtre de façon à éliminer toute trace de solution de cuivre de BERTRAND. Décanter la dernière eau de lavage sur le creuset, en entraînant toujours le moins possible d'oxydule. Filtrer.

Dans le vase où reste la plus grande quantité d'oxydule, verser 3 cc. d'eau oxygénée à 10 volumes et de l'acide azotique N/1 jusqu'à solubilisation.

Verser cette solution sur le creuset filtrant que l'on aura monté sur un nouvel erlen. Laisser reposer un instant.

Le peu d'oxydule qui est passé sur le creuset pendant les décantations se dissout. Filtrer goutte à goutte en s'aidant du vide.

Laver le filtre. L'« erlen » contient la solution de nitrate de cuivre à doser.

3^e méthode. — *La plus simple* : au moyen d'un entonnoir de petite taille et d'un filtre en papier ordinaire non plissé, mais à mailles serrées. On aura soin de munir la douille de l'entonnoir d'un petit tuyau de caoutchouc que l'on pourra fermer au moyen d'une pince de MOHR.

Séparer l'oxydule comme précédemment ; le laver.
1^o Dissolution de l'oxydule contenu dans l'erlen : verser 2,5 cc. d'eau oxygénée à 10 volumes, puis de l'acide azotique N/1 jusqu'à dissolution. Porter cet erlen sous l'entonnoir placé sur un support. 2^o Dissolution de l'oxydule passé sur le filtre pendant les décantations : fermer

la pince, verser sur le filtre : 1 cc. de H^2O^2 à 10 volumes.

1 cc. de NO^3H N/1.

La dissolution s'opère en quelques secondes. Ouvrir la pince. Rincer le filtre.

L'erlen contient la solution de nitrate de cuivre à doser.

Dosage du cuivre.

L'erlen contenant la solution de cuivre à doser est porté sur une toile métallique. Amener à l'ébullition que l'on maintiendra deux minutes afin de détruire l'excès d'eau oxygénée.

Refroidir sous un robinet.

Compléter à 20 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter : II gouttes d'héliantine.

II gouttes de phtaléine.

L'héliantine colore la solution *en rouge*.

Ajouter de la soude N/10 jusqu'à coloration *jaune citron* de l'héliantine. (Le virage de l'héliantine doit être observé en lumière indirecte).

Mettre au zéro la burette contenant la soude N/10.

Continuer à ajouter de la soude N/10 jusqu'à coloration violette stable due à la phtaléine, et en agitant constamment.

(Précipitation du cuivre à l'état d'hydrate et de sels basiques).

Soit X le nombre de cc. versés jusqu'à ce virage.

Ajouter encore un excès de soude égal à X/3.

Soit N la quantité totale de soude N/10 versée.
($N = X + X/3$).

Chaulfer en agitant de temps en temps, jusqu'à ébullition, que l'on maintiendra : de $\frac{1}{2}$ minute pour les doses faibles de sucre, à 1 minute pour les doses fortes. (Destruction des sous-sels).

Retirer du feu et filtrer rapidement. Pour cela, verser le tout sur un filtre plissé ordinaire de capacité suffisante.

Recevoir le filtrat dans un erlenmeyer. Ce filtrat doit être violet. (Coloration de la phtaléine due à l'excès de soude).

Rincer l'erlen et laver le filtre avec de l'eau bouillante.

Titre l'excès de soude dans le filtrat au moyen d'acide sulfurique N/10 jusqu'à décoloration de la phtaléine.

Soit P le nombre de cc. d'acide sulfurique versé.

Calculs : $(N - P) \times 3,175 =$ Cuivre dosé exprimé en mgr.

Se rapporter au tableau de BERTRAND et calculer la quantité de sucre correspondant à la quantité de cuivre trouvée.

Exemple : Soit $N = 17,6$ et $P = 1,8$.

$$(17,6 - 1,8) \times 3,175 = 50,1 \text{ mgr. de cuivre.}$$

Le tableau de BERTRAND relatif au glucose indique :

Pour 25 mgr. de glucose : 49,6 mgr. de cuivre.

Pour 26 mgr. de glucose : 51,5 mgr. de cuivre.

En interpolant on trouve que 50, 1 mgr. de cuivre correspondent à 25,2 mgr. de glucose.

**Résultats obtenus au moyen de la technique ci-dessus ;
comparativement aux résultats obtenus
avec la méthode de Bertrand.**

Tous les dosages dont les résultats sont exposés dans le tableau VI ont été effectués à partir d'une solution à 10 % de glucose pur. (Desséché au préalable dans le vide sulfurique).

TABLEAU VI

Glucose de la prise d'essai (en mgr.)	Résultats obtenus par la méthode de Bertrand	Erreur %	Résultats obtenus par la méthode des deux indicateurs	Erreur %
10	10,1 - 10,1 - 10,2	+ 1,3	10,2 - 10,3 - 10,2	+ 2,3
20	20,1 - 20,2 - 20,1	+ 0,66	20,0 - 20,0 - 20,1	+ 0,16
50	50,5 - 50,5 - 50,4	+ 0,93	50,2 - 50,6 - 50,1	+ 0,6
80	80,6 - 80,6 - 80,5	+ 0,7	80,9 - 80,6 - 80,8	+ 0,95
90	91,5 - 91,3 - 91,5	+ 1,5	91,3 - 91,2 - 91,2	+ 1,3
100	101,3 - 101,0 - 101,2	+ 1,1	101,1 - 100,3 - 101,0	+ 0,8

Les résultats obtenus par notre méthode sont comparables à ceux donnés par la méthode de BERTRAND.

Les résultats les meilleurs sont obtenus avec les dosages effectués sur des doses moyennes. Pour les deux méthodes on devra s'efforcer d'opérer sur des doses de sucre comprises entre 20 et 90 mgr.

Les 3 minutes d'ébullition devront être *rigoureusement* comptées dans les deux cas.

En respectant ces conditions, les erreurs ne dépassent jamais 1,5 %.

Si la méthode des deux indicateurs a le léger inconvénient d'être un peu plus longue que celle de BERTRAND, elle présente *le grand avantage de pouvoir être appliquée en série.*

Les réductions étant opérées les unes après les autres, la suite des dosages peut être menée de front (l'oxydule sera alors recueilli par centrifugation). La réoxydation de l'oxydule n'entrant jamais en ligne de compte. Économie de temps et économie de réactif, car nous n'employons, à part les solutions A et B de BERTRAND, que de la soude N/10 et de l'acide sulfurique N/10 qui sont d'usage courant.

Ces quatre réactifs n'ont pas besoin d'être préparés uniquement en vue du dosage des sucres, car un laboratoire peut très bien remplacer les liqueurs de Fehling A et B par les liqueurs de Bertrand pour la simple recherche des sucres.

Notre méthode est avant tout pratique. Comme celle de BERTRAND elle ne s'applique pas uniquement au dosage du glucose. Les conditions de réduction étant les mêmes, il est évident que les tableaux de correspondances de BERTRAND sont applicables dans ces deux cas, que ce soit pour le glucose, pour le sucre interverti ou pour le lactosé, puisque en définitive tout revient à un dosage du cuivre réduit.

CHAPITRE III

Applications de la méthode proposée en chimie alimentaire

Pharmacie chimique et chimie biologique

Nous avons réuni dans ce chapitre les résultats que nous avons obtenus en employant la méthode officielle d'analyse, sur divers produits sucrés relevant soit de la chimie alimentaire, soit de la pharmacie chimique, soit sur des urines de diabétiques. Le dosage proprement dit des sucres réducteurs a été réalisé au moyen de la technique précédemment décrite (méthode des deux indicateurs) parallèlement à celle de BERTRAND.

1° APPLICATION AUX DOSAGES DES SUCRES EN CHIMIE ALIMENTAIRE

Analyses de confitures.

		Saccharose %	Glucose %	Levulose %	Sucres totaux %
...RI.M	BERTRAND	27,41	17,83	17,53	62,77
	DEUX IND.	27,30	17,85	17,50	62,65
...RADA.	BERTRAND	35,44	12,45	18,32	66,21
	DEUX IND.	35,40	12,50	18,50	66,40
...COA.	BERTRAND	24,89	19,06	17,00	60,95
	DEUX IND.	24,87	19,10	17,05	61,02

Analyses de compotes et marmelades.

		Saccharose %	Glucose %	Levulose %	Sucres totaux %
...RI.M...	BERTRAND	1,71	29,32	33,07	64,10
	DEUX IND.	1,50	29,60	33,50	64,60
....X....	BERTRAND	4,79	41,51	(1,00)	47,30
	DEUX IND.	4,80	41,45	(0,98)	47,23
....RI.R.	BERTRAND	0,95	28,38	30,61	59,94
	DEUX IND.	0,97	28,30	30,56	59,83

présence de dextrine

Sucres réducteurs dans les vins rouges.

	CDO..C..	CDO..C..	CDO..C..	...RI..M..
BERTRAND	1,52	1,68	1,30	1,60
DEUX IND.	1,50	1,70	1,25	1,55

Les sucres sont exprimés en glucose pour mille.

Matières amylacées. Pains dits de « régime ».

Les matières hydrocarbonées sont exprimées en amidon pour cent.

	Pain frais au gluten	Pain frais au gluten	Pain frais au gluten	Pain frais au soja
BERTRAND	30,87	16,83	35,82	39,06
DEUX IND.	30,80	16,85	35,75	39,00

	Pain d'aleurone H.....	Pain de gluten H.....	Pain de régime Ch.....	Pain de gluten T...V....
BERTRAND	4,86	moins de 1 %	15,75	24,84
DEUX IND.	4,88	moins de 1 %	15,70	24,88

Pâtés de foie (amidon %).

	...RI..M..	CDO..C..	Pâté de tête; X.	H..M..V.
BERTRAND	2,89	3,12	1,77	1,90
DEUX IND.	2,85	3,10	1,75	1,85

Analyses de fourrages mélassés.

(Sucres totaux en glucose %).

	Pailles mélassées		Caroubes mélassées	
	...RADA..	...RI..M..	I..M...	..RI..M..
BERTRAND	22,50	23,12	44,92	43,50
DEUX IND.	22,30	23,50	44,88	43,50

2° ANALYSES DE SIROPS OFFICINAUX

		Sucre inverti %	Saccharose %
<i>Sirop simple</i> préparé à froid	BERTRAND	Traces	61,8
	DEUX IND.	Traces	61,9
	POLARIMÉTRIE		62,3
<i>Sp. d'écorce</i> <i>d'orange amère,</i> du Codex 1908	BERTRAND	2,5	60,3
	DEUX IND.	2,0	60,7
<i>Sp. d'écorce</i> <i>d'orange amère,</i> préparé avec l'extrait du Codex 1937	BERTRAND	0,20	58,7
	DEUX IND.	0,25	59,0
<i>Sp. d'acide citrique</i> du Codex 1908	BERTRAND	27,8	37,6
	DEUX IND.	27,2	37,9
<i>Sp. de cerise</i> du Codex 1908	BERTRAND	1,7	60,5
	DEUX IND.	2,0	60,2

3° DOSAGE DU LACTOSE DANS LE LAIT DE VACHE (lactose hydraté par litre).

	Lait A.	Lait B.	Lait C.	Lait D.
DEUX IND.	51,5	52,1	49,9	50,0
DEUX IND.	51,8	52,2	49,0	50,2

4° DOSAGE DU GLUCOSE DANS QUELQUES URINES
DE DIABÉTIQUES

	Mr. Hu...	Mr. Ta....	Mr. Ri....	Mr. Br....
BERTRAND	4,50	18,4	60	7,8
DEUX IND.	4,55	19,0	61	7,1

Résultats exprimés en glucose par litre.

CHAPITRE IV

Application particulière au dosage du glucose contenu dans le sang ou dans le liquide céphalo-rachidien Glycémie

I. — LES DIFFÉRENTS PRINCIPES POSSIBLES DE MICRO-DOSAGES DU GLUCOSE

Les semi-micro-méthodes et les micro-méthodes de dosage du glucose sont aussi nombreuses, sinon plus que les méthodes de macro-dosage des sucres. Leur intérêt réside dans leur application à la mesure de la glycémie et de la glycorachie, intérêt qu'il est inutile de souligner.

Parmi les différentes propriétés présentées par le glucose et susceptibles de servir à son micro-dosage, seul le pouvoir réducteur peut-être retenu à cause de sa grande sensibilité.

1° *Réduction d'un composé avec changement de coloration appréciable au colorimètre.*

LEWIS et BENEDICT [32] utilisent la réduction de l'acide picrique jaune en acide picramique rouge (en milieu alcalin).

Le principal inconvénient de cette méthode est de se terminer par colorimétrie, et il n'a pas été clairement démontré qu'il y ait proportionnalité parfaite entre l'intensité de la coloration et la teneur de la solution en glucose [33]. De plus, d'autres composés du sang, notamment la créatinine agissent sur l'acide picrique ; cette méthode n'est pas spécifique du glucose sanguin.

2° *Réduction du ferricyanure de potassium en ferrocyanure.*

C'est le principe de la méthode de HAGEDORN-JENSEN [34]. Elle consiste à faire agir le glucose sur un excès de ferricyanure titré en milieu alcalin. Le glucose transforme une partie de ferricyanure en ferrocyanure. L'excès de ferricyanure est dosé iodométriquement en milieu acide.

Cette méthode est des plus sensibles, permettant de doser des quantités de glucose inférieures au 1/10 de mgr. Son principal défaut est sa trop grande sensibilité qui fait compter comme glucose la moindre trace de substance réductrice, d'autre part, elle nécessite un matériel spécial ; les manipulations sont longues et délicates.

3° Réduction des sels de mercure.

C'est la méthode de BAUDOIN-LEWIN [35] basée sur le principe suivant : On fait agir à chaud, sur le sang déféqué au nitrate de mercure, une solution alcaline d'iodo-mercure. Le mercure métallique provenant de la réduction du réactif par le sucre sanguin est dosé par dissolution dans un excès d'une solution titrée d'iode et détermination de cet excès par une solution titrée d'hypo-sulfite de soude.

4° Réduction d'une liqueur cupro-alcaline en sous-oxyde de cuivre, et appréciation de la quantité d'oxydule produite.

C'est le principe sur lequel sont venues se greffer le plus grand nombre de méthodes.

Toutes reposent sur les propriétés du Cu^2O vis-à-vis de réactifs appropriés.

On a principalement employé pour ce dosage :

a) L'*iodométrie* (méthode de BANG) [36] et ses modifications.

b) La *réduction du sulfate ferrique par le Cu^2O en sulfate ferreux*, et le dosage de ce dernier par le permanganate de potassium. (Méthodes dérivées de la méthode type de BERTRAND [28], notamment par MICHAELIS, KOVARSKY, AMBARD), etc...

GUILLAUMIN [37], entre autre a donné une véritable application de la technique de BERTRAND à l'échelle semi-microanalytique.

Il emploie les solutions cuprique, tartrique et ferrique de BERTRAND, seul le titre de la solution permanganique change. Le temps de réduction (qu'il opère au B. M.) est porté de 3 à 7 minutes.

c) *La réduction de l'acide molybdique en solution phosphorique, en bleu de molybdène.* — A ce groupe appartiennent les méthodes de FOLIN-WU (estimation colorimétrique) et de FONTES-THIVOLLE (estimation titrimétrique) que, en raison de leur importance pratique, nous indiquerons avec plus de détails.

Méthode de Folin-Wu (38) (colorimétrique).

Résumé de la technique. — La prise d'essai initiale de sang ou de plasma fluoré est de 1 cc. que l'on défèque à l'acide tungstique. Le dosage du glucose sanguin s'effectue sur 2 cc. de déféquat au 1/10. Donc pour une glycémie normale le glucose mis en œuvre est de 0.20 mgr. ; chiffre de beaucoup inférieur à celui de la technique de GUILLAUMIN. (Cet auteur partant de 8 cc. de plasma opère après défécation mercurielle sur 4 mgr. de glucose).

Les 2 cc. de déféquat tungstique sont additionnés, dans un gros tube à essai de 2 cc. d'une liqueur cupro-alcaline spéciale (nous en indiquerons la composition plus loin), plus sensible que la liqueur de Bertrand.

Le tube est ensuite porté dans le B. M. bouillant pendant 7 minutes exactement puis refroidi en le plongeant dans l'eau froide. On ajoute alors 2 cc. de réactif phospho-tungsto-molybdique.

Après dilution par addition de 20 cc. d'eau distillée, on fait un dosage colorimétrique par comparaison avec un étalon préparé dans les mêmes conditions que le dosage à partir d'une solution titrée de glucose.

Cette méthode est pratique, car elle est susceptible d'être appliquée en grande série, mais sa précision n'est pas très grande. On peut lui adresser le même reproche qu'à tant de méthodes colorimétriques, à savoir que, la comparaison colorimétrique n'est pas utilisable si les couleurs n'ont pas environ la même intensité [39-40].

Des modifications ont été apportées à cette technique dans le but de rendre ce dosage plus sensible et plus fidèle.

On ne calcule plus dans la méthode de *Folin-Wu corrigée* la quantité de sucre contenue dans la prise d'essai au moyen d'un rapport de proportionnalité, mais on se rapporte à des tableaux calculés au moyen de courbes de correction ; elles-mêmes établies par des dosages multiples effectués sur des solutions titrées de glucose. En multipliant les témoins et en procédant au dosage colorimétrique avec l'étalon le plus rapproché, on obtient de bons résultats.

Méthode de Fontès-Thivolle (41) (titrimétrique).

Cette méthode de dosage du glucose sanguin est dérivée de la précédente. La prise d'essai de sang est toujours de 1 cc. que l'on défèque par l'acide tungstique. La réduction doit s'opérer, disent les auteurs, sur une quantité de glucose inférieure à 1,3 mgr. Comme pré-

cédemment, le déféquat prélevé est versé dans un gros tube à essai : le volume complété à 5 cc. et additionné de 2 cc. d'une liqueur cupro-alkaline de composition telle, (nous donnerons la formule plus loin), que la quantité d'oxydure formé est proportionnelle à la quantité de glucose mise en œuvre.

Le tube est ensuite porté dans le B.M. bouillant pendant 20 minutes. L'oxydure séparé et lavé est dissous dans un réactif phosphomolybdique avec production d'une intense coloration bleue due à du sous-oxyde de molybdène.

On réoxyde alors MoO^2 par une solution titrée de permanganate de potassium jusqu'à disparition de toute couleur. De la quantité de MnO^4K versée, on déduit la quantité de glucose ayant réagi.

Critique. — Les méthodes de FOLIN-WU *et de FONTÈS-THIVOLLE sont certainement de toutes les méthodes de mesure de la glycémie les plus pratiques, les plus rapides et par cela les plus usitées.

Toutes les deux sont basées comme nous venons de le voir sur la réduction de liqueurs cupro-alkalines, génératrices d'oxydure sous l'influence du glucose réducteur.

Le point critique de ces deux méthodes est comme dans les cas de la méthode de BERTRAND la *réoxydation de l'oxydure*.

Nous avons cherché à supprimer cet inconvénient en ne dosant plus l'oxydure par ses propriétés réductrices vis-à-vis du sulfate ferreux ou d'un réactif phosphomolybdique, mais en dosant l'ion cuivre passé pendant la réduction à l'état de Cu^2O .

Nous avons pu appliquer à la semi-micro analyse le principe du dosage du cuivre selon la méthode des deux indicateurs ; principe qui nous a déjà été permis d'établir comme nous l'avons vu un dosage des sucres réducteurs aussi précis que le dosage selon la méthode de BERTRAND.

Nous indiquons ci-dessous la technique d'un semi-micro dosage du cuivre selon la méthode des deux indicateurs. Cette technique n'a été mise au point qu'en vue de son application au dosage du glucose sanguin ; ce n'est pas une méthode générale de dosage de l'ion Cu, car tous nos essais ont été effectués sur des solutions titrées de cuivre pur dissous dans l'acide azotique. Nous nous sommes toujours placés dans les conditions de la mesure de la glycémie et uniquement dans celles-ci.

II. — MISE AU POINT

A L'ECHELLE SEMI-MICROANALYTIQUE

DU DOSAGE DU CUIVRE

SELON LA MÉTHODE DES DEUX INDICATEURS

Le principe est toujours le même : dosage du cuivre basé sur les propriétés différentielles de la phtaléine et de l'héliantine.

Réactifs.

1° Acide sulfurique N/100 préparé extemporanément par dilution au 1/10 de l'acide sulfurique N/10.

2° Soude N/100 préparée extemporanément à partir de la soude N/10 et ajustée sur l'acide N/100.

3° Héliantine en solution aqueuse à 0,10 %.

4° Phénolphtaléine en solution alcoolique à 1 %.

Matériel : Pour la soude N/100, une microburette de 5 cc. divisée en 1/50° de cc., et pour l'acide sulfurique N/100 une microburette de 2 cc. divisée en 1/100° de cc.

Nous avons effectué nos dosages du cuivre soit dans des micro-erlens de 50 cc., soit dans des tubes à centrifuger en Pyrex de 20 cc. Le mélange des liquides se faisant difficilement dans ces tubes, même par agitation du tube lui-même, nous y plongeons un petit agitateur très fin terminé par une boucle et qui par un va et vient de haut en bas réalisait l'homogénéisation du milieu.

De la formation des sels basiques en solutions diluées.

Au cours de la mise au point de la technique, nous avons fait les mêmes observations que dans le cas du dosage de quantités de cuivre comprises entre 20 et 200 mgr. (Se reporter au macrodosage).

Même en solution diluée, il y a formation de sous-sels par addition de soude à une solution de sel de cuivre, et dans ce cas, comme dans le précédent, nous sommes obligés d'ajouter un excès de soude pour détruire les sels basiques. Cependant, pour des doses faibles de cuivre (de 1 à 2 mgr.), et en employant pour la précipitation du métal à l'état d'hydrate de la soude N/100, une plus forte proportion de cuivre passe directement à l'état de $\text{Cu}(\text{OH})^2$, que lorsque l'on opère

sur des doses fortes de cuivre, (de 20 à 200 mgr.) et que l'on précipite par de la soude N/10.

C'est pour cette raison, que dans le cas du semi-micro dosage, il est nécessaire de n'ajouter qu'un volume de soude N/100 égal à $X/4$, alors que dans le cas du macro-dosage, il fallait ajouter un volume de soude N/10 égal à $X/3$ (X étant dans les deux cas le nombre de cc. de soude titrée versée dans la solution pour faire virer la phtaléine ; le cuivre étant à ce moment précipité à l'état d'hydrate mélangé à une certaine quantité de sels basiques).

La proportion dans laquelle se forment les sous-sels dépend de la dilution du milieu. Elle est d'autant plus faible que celle-ci est plus grande. Il semble donc que l'on puisse, quelle que soit la quantité de cuivre, précipiter directement celui-ci à l'état de $\text{Cu}(\text{OH})_2$, par dilution préalable de la solution cuivrique. Nous avons réalisé de telles solutions pour des doses de cuivre allant de 0,1 mgr. à 0,5 mgr. Le virage direct de la phtaléine donnait alors des résultats exacts. Ce procédé n'est pas applicable à une méthode générale de dosage, car la dilution est alors telle pour les fortes doses de métal que :

- 1° Le volume de liquide à manipuler serait trop grand.
- 2° Le virage des indicateurs ne serait plus sensible à l'œil.

Nous sommes donc obligés d'avoir recours à un excès de soude et de faire un virage par retour. Dans le cas du semi-micro dosage, nous opérons sur un volume initial de solution cuivrique égal à 2 cc. ; à partir de

0,5 mgr. de cuivre, la destruction des sous-sels ne s'effectue pas entièrement à froid, même en présence d'un fort excès de soude d'où nécessité de s'aider de la chaleur.

Comparativement au macro-dosage, nous ne gagnons dans le semi-micro dosage qu'un seul temps au cours des opérations à effectuer : c'est la filtration. L'hydrate de cuivre étant en quantité si faible qu'il ne communique pas au milieu une opacité pouvant empêcher l'œil de voir le virage de la phtaléine. La séparation de cet hydrate par filtration devient inutile.

Résumé de la technique.

On opère soit dans un erlenmeyer de 50 cc., soit dans un tube à centrifuger de 20 cc. en Pyrex.

La quantité de cuivre à doser doit être comprise entre 0,20 mgr. et 2 mgr.

La solution de l'ion cuivre doit avoir un volume de 2 à 3 cc. et doit être légèrement acide.

Ajouter : 1 goutte d'héliantine ;

1 goutte de phtaléine.

L'héliantine colore la solution en rouge.

Ajouter de la soude N/100 jusqu'au virage au jaune citron de l'héliantine (le virage de l'héliantine doit être observé en lumière indirecte).

Mettre au zéro la burette contenant la soude N/100.

Continuer à ajouter de la soude N/100 jusqu'à coloration violette stable due à la phtaléine et en agitant constamment (précipitation du cuivre à l'état d'hydrate et de sels basiques).

Soit X le nombre de cc. de soude versés jusqu'à ce virage.

Ajouter encore un excès de soude égal à $X/4$.

Soit N la quantité totale de soude N/100 versée.
($N = X + X/4$).

Détruire alors les sous-sels par la chaleur. Si l'on a opéré dans un « erlen », on portera celui-ci sur une petite flamme et l'on chauffera jusqu'à début d'ébullition sans maintenir le chauffage plus longtemps. Si l'on a opéré dans un tube à centrifuger, on plongera celui-ci dans un B.M. bouillant pendant 2 à 3 minutes.

Dans les deux cas, on refroidira en plongeant dans l'eau froide.

Doser en retour l'excès de soude au moyen d'acide sulfurique N/100 jusqu'à décoloration de la phtaléine.

Remarque. — La faible quantité d'hydrate noir en suspension dans le liquide ne gêne en rien la lecture du virage.

Soit P le nombre de cc. d'acide versé.

Calculs. — D'après la réaction :



1 cc. de OHNa N/100 = 0,3175 mgr. de cuivre.

d'où $(N-P) \times 0,3175 =$ cuivre de la prise d'essai en mgr.

Exemple. — La coloration violette stable due au virage direct de la phtaléine s'est produite après avoir ajouté à la liqueur cuivrique 1,48 cc. de soude N/100.

Nous avons encore ajouté $1,48/4 = 0,37$ de soude N/100.

Soit au total $1,48 + 0,37 = 1,85$ cc. de soude N/100.

Pour le dosage en retour de l'excès de soude, nous avons utilisé 0,24 cc. d'acide sulfurique N/100.

$$(1,85 - 0,24) \times 0,3175 = 0,51 \text{ mgr. de cuivre.}$$

Résultats obtenus :

Nous avons préparé une solution titrée contenant 10 gr. de cuivre métallique pur par litre. Le métal ayant été dissous dans l'acide azotique et le volume complété à 1000 cc. A partir de cette solution-mère, nous avons obtenu par dilution des solutions que nous avons dosées.

TABLEAU VII

CU de la prise d'essai (en mgr.)	Résultats obtenus par le dosage suivant la méthode des deux indicateurs	Moyenne	Erreur %
0,20	0,20 - 0,21 - 0,21	0,210	+ 5
0,30	0,31 - 0,30 - 0,30	0,303	+ 1
0,40	0,41 - 0,41 - 0,42	0,413	+ 3,2
0,50	0,49 - 0,50 - 0,50	0,496	— 0,8
0,60	0,61 - 0,60 - 0,60	0,603	+ 0,5
0,80	0,80 - 0,80 - 0,81	0,803	+ 0,37
1,00	0,99 - 0,99 - 1,00	0,993	— 0,3
1,30	1,31 - 1,31 - 1,31	1,310	+ 0,7
1,50	1,49 - 1,50 - 1,49	1,493	— 0,4
2,00	2,00 - 1,99 - 2,01	2,000	0

Cette méthode de dosage semi-micro analytique du cuivre est suffisamment précise pour être appliquée au dosage du cuivre réduit, obtenu par action d'un sucre réducteur sur une liqueur cupro-alcaine.

III. — APPLICATION
DU SEMI-MICRODOSAGE DU CUIVRE
SELON LA MÉTHODE DES DEUX INDICATEURS
AU DOSAGE DU GLUCOSE DANS LE SANG

Choix d'un réactif cupro-alkalin.

Les trois principaux réactifs cupro-alkalins étudiés en vue de la mesure de la glycémie sont :

1° *La solution de BERTRAND*, utilisée par GUILLAUMIN mais que nous n'emploierons pas à cette échelle. La sensibilité du réactif n'étant pas suffisante.

2° *La solution cupro-alkaline de FONTES-THIVOLLE.* — Le réactif cupro-alkalin de FONTES-THIVOLLE se prépare en trois solutions que l'on mélange à volumes égaux au moment de l'emploi.

Solution A

Dissoudre à l'ébullition 50 gr. de tartrate acide de potassium très pur (pesés au 1/10 de mgr.) dans 800 cc. d'acide sulfurique normal. Faire, d'autre part, une solution de 25 gr. de sulfate de cuivre cristallisé (pesés au 1/10 de mgr.) dans environ 80 cc. d'eau distillée, et l'ajouter à la précédente. Refroidir. Compléter à 1000 cc. avec de l'eau distillée. La solution doit être absolument limpide. Filtrer si c'est nécessaire. Cette solution, très altérable ne doit être préparée que par 100 cc. à la fois.

Solution B

Sulfate de potassium cristallisé à 80 gr. par litre.

Solution C

Carbonate de potassium pur et sec à 280 gr. par litre.

Par le mélange de ces trois solutions, volume à volume, on obtient un réactif dont l'alcalinité est due à du carbonate de K. FONTES et THIVOLLE ont choisi le CO^3K^2 au lieu de la potasse ou de la soude car le rendement en Cu^2O est plus élevé avec ce sel qu'avec les bases, d'où plus grande sensibilité.

L'introduction du sulfate de K a pour but, d'après les auteurs, d'obtenir un sous-oxyde microchimique aggloméré et non colloïdal se décantant facilement. En fait, lorsque nous avons utilisé ce réactif, nous avons obtenu un oxydule presque aussi colloïdal que celui que nous obtenons avec le réactif de FOLIN-WU, inconvénient de peu d'importance, puisque l'oxydule même colloïdal se centrifuge très bien.

Le principal avantage du réactif de FONTES-THIVOLLE est d'avoir été étudié et réalisé de telle façon que la quantité d'oxydule formée est proportionnelle à la quantité de sucre mis en œuvre. D'où le grand avantage de pouvoir se passer de tableau de correspondance.

Il suffit de savoir que dans les conditions du dosage selon la technique de FONTES-THIVOLLE (5 cc. de solution sucrée + 2 cc. de réactif résultant du mélange des trois solutions A, B, C, et 20 minutes de chauffage au B.M. bouillant), 1 mgr. de glucose réduit 2,666 mgr. de cuivre, pour calculer au moyen d'un simple rapport de pro-

portionnalité, à partir de la quantité de cuivre dosée, la quantité de glucose contenue dans la prise d'essai et passer de là, à la glycémie pour 1000.

Mais ce n'est pas sur ce réactif que s'est porté notre choix. Le réactif de FOLIN-WU en effet, ne demande la préparation que d'une seule solution.

3° *Solution cupro-alkaline de FOLIN-WU.* — Dissoudre d'une part :

Carbonate de sodium sec	40 gr.
Acide tartrique	7 gr. 50
Eau distillée	400 cc.

D'autre part :

Sulfate de cuivre	4 gr. 50
Eau distillée	50 cc.

Mélanger et compléter à un litre avec de l'eau distillée.

Avec ce réactif, le temps de réduction est seulement de 7 minutes (20 minutes avec le réactif de F. T.) d'où gain de temps. Ce réactif est d'autre part aussi sensible que celui de FONTES-THIVOLLE.

En effet, 0,20 mgr. de glucose réduisent avec le réactif de FOLIN-WU, 0,5207 mgr. de cuivre.

Avec le réactif de F.-T. et 20 minutes de réduction, 0,20 mgr. de glucose réduisent 0,5332 mgr. de cuivre.

La solution cupro-alkaline de FOLIN-WU se comporte vis-à-vis du glucose comme celle de BERTRAND ; c'est-à-dire que la quantité d'oxydule réduit n'est pas exactement proportionnelle à la quantité de sucre dosé d'où nécessité d'établir un tableau de correspondance.

Table de correspondance.

Nous avons établi cette table en partant d'une solution de glucose pur desséché dans le vide sulfurique. La solution mère de glucose était au titre de 1 % ; à partir de cette solution nous préparions par dilutions et mélanges des solutions de titres variables et très voisins. Ces solutions n'étaient préparées qu'au moment du besoin. (La jauge des ballons, pipettes, burettes a été vérifiée au préalable). Nous avons effectué nos dosages en nous plaçant dans les conditions du dosage du sucre sanguin.

La solution la plus faible dosée contenait 0,05 gr. de glucose pour mille. (Cette solution correspond au déféquat tungstique d'un sang dont la glycémie initiale serait de 0,50 gr.

La solution la plus forte était au titre de 0,40 gr. pour mille. (Correspondant à un sang dont la glycémie initiale serait de 4 gr.

Nous prenions 2 cc. de solution sucrée que nous mélangions dans des tubes à centrifuger de 20 cc. à 2 cc. de réactif cupro-alcalin de FOLIN-WU. Nous portions ces tubes au B. M. pendant 7 minutes, puis, après avoir refroidi dans l'eau froide, nous centrifugions pour séparer l'oxydule. Après lavage et dissolution de l'oxydule par l'acide azotique dilué et l'eau oxygénée, nous dosions le cuivre par la semi-micro méthode des deux indicateurs.

La quantité de glucose dosée, la plus faible, a été de 0,10 mgr. ; la quantité la plus forte de 0,80 mgr., 0,10

mgr. et 0,80 mgr. représentent la limite minimum et la limite maximum du dosage.

Entre ces deux chiffres, nous avons effectué des dosages de $1/40^{\circ}$ en $1/40^{\circ}$ de mgr. entre 0,10 mgr. et 0,40 mgr, et de $1/20^{\circ}$ en $1/20^{\circ}$ de 0,40 à 0,80 mgr.

Chaque dosage a été fait en triple. La moyenne des trois chiffres obtenus nous a donné la quantité de glucose dosée. Pour plus de commodité dans les calculs, nous avons supprimé le passage intermédiaire par le cuivre et nous avons établi directement la correspondance entre la quantité de soude N/100 exprimée en cc. (N-P) et la glycémie pour mille.

DOSAGE DU GLUCOSE DANS LE SANG

Principe. — Le plasma oxalaté à 5 ‰ ou fluoré à 2 ‰ (1) (pour éviter la glycolyse) défèqué à l'acide tungstique, est chauffé avec une liqueur cupro-alcaline. L'oxydule de cuivre formé, recueilli par centrifugation et lavé est solubilisé par un acide. Dans la solution obtenue, on dose l'ion cuivrique par la méthode des deux indicateurs. La correspondance entre la quantité de cuivre trouvée et la glycémie est obtenue au moyen d'une table.

Matériel. — Pour la soude N/100 : une microburette de 5 cc. divisée en $1/50^{\circ}$ de cc. Pour l'acide sulfurique N/100 : une microburette de 2 cc. divisée en $1/100^{\circ}$ de cc.

(1) L'emploi de fluorure de Na est préférable à celui de l'oxalate.

Le dosage s'effectue dans des tubes à centrifuger en Pyrex de 20 cc.

Réactifs nécessaires :

I. — *Réactifs défectueux.*

1° Tungstate de soude à 10 %.

On doit purifier par recristallisation tout échantillon donnant à la titration en présence de phtaléine plus de 0,4 cc. d'acide N/10 pour 10 cc. de cette solution à 10 %.

2° Acide sulfurique N 2/3.

II. — *Solution cupro-alcaline de FOLIN-WU.*

III. — *Réactifs nécessaires pour le dosage du cuivre.*

1° Acide sulfurique N/100 préparé extemporanément par dilution au 1/10^e de l'acide N/10.

2° Soude N/100 préparée extemporanément à partir de la soude N/10 et ajustée sur l'acide N/100.

3° Héliantine en solution aqueuse à 0,10 gr. %.

4° Phénolphtaléine en solution alcoolique à 1 %.

5° Acide azotique sensiblement N/10.

6° Eau oxygénée à 2,5 volumes, préparée par dilution au 1/4 de l'eau oxygénée officinale à 10 volumes.

Technique.

1° *Défection du sang total ou du sérum.* — (On peut employer le sang total, car le taux du sucre dans les globules est assez voisin de celui du plasma).

Dans une éprouvette de 20 cc., mesurer successivement en mélangeant dans l'ordre :

Plasma	1 cc.
Eau	7 cc.
Tungstate de soude à 10 %	1 cc.
Acide sulfurique N 2/3	1 cc.

Filtrer et prélever 2 cc. que l'on introduit dans un tube à centrifuger de 20 cc. avec 2 cc. de liqueur cupro-alcaline de FOLIN.

Plonger le tube dans le B.M. bouillant pendant 7 minutes exactement. (Ces 7 minutes doivent être comptées à partir du moment où l'eau du B.M. se remet à bouillir après l'arrêt causé par l'introduction des tubes).

2° *Séparation et dissolution de l'oxydure.* — Centrifuger. Décanter. Laver l'oxydure deux fois avec de l'eau distillée. Décanter la dernière eau de lavage.

Diviser le culot au moyen d'un petit agitateur.

Ajouter 1 goutte d'eau oxygénée au 1/4, puis de l'acide azotique N/10 goutte à goutte et en agitant constamment jusqu'à dissolution complète de l'oxydure.

(Remarque : pour une glycémie normale, 4 gouttes d'acide azotique suffisent pour une glycémie de 4 gr., 0,9 cc. sont nécessaires).

Plonger le tube dans le B.M. bouillant pendant 3 à 4 minutes pour détruire l'excès d'eau oxygénée. Refroidir en plongeant dans l'eau froide. Compléter le volume à 2 cc. environ.

3° *Dosage du cuivre.* — Introduire dans le tube :

1 goutte d'héliantine.

1 goutte de phtaléine.

L'héliantine colore la solution en rouge.

Ajouter de la soude N/100 au moyen d'une micro-burette jusqu'au virage au jaune citron de l'héliantine. (Le virage de l'héliantine doit être observé en lumière indirecte).

Mettre au zéro la micro-burette contenant la soude N/100.

Continuer à ajouter de la soude N/100 jusqu'à coloration violette stable due à la phtaléine, et en agitant constamment.

Soit X le nombre de cc. de soude versée jusqu'à ce virage.

Ajouter encore un excès de soude égal à $X/4$.

Soit N la quantité totale de soude N/100 versée ($N = X + X/4$). Plonger de nouveau le tube dans le B.M. bouillant pendant 2 à 3 minutes (Destruction des sous-sels), Refroidir en plongeant dans l'eau froide et titrer par retour l'excès de soude au moyen de l'acide sulfurique N/100 jusqu'à décoloration de la phtaléine.

Soit P le nombre de cc. d'acide versé.

Calculs

$(N-P)$ = nombre de cc. de soude N/100 correspondant au cuivre dosé. Se reporter à la table donnant directement la correspondance entre le nombre de cc. soude versée et la glycémie pour mille. (Tableau VIII, page 93).

TABLEAU VIII.

*Tableau de correspondance
entre (N-P) et la glycémie pour mille.*

Glycémie de 0,50 à 4 gr. ‰				Glycémie de 0,80 à 2 gr. ‰			
Soude N/100	Glycé- mie	Soude N/100	Glycé- mie	Soude N/100	Glycé- mie	Soude N/100	Glycé- mie
0,72....	0,50	3,73....	2,30	1,270....	0,80	2,375....	1,42
0,81....	0,55	3,80....	2,35	1,305....	0,82	2,410....	1,44
0,90....	0,60	3,88....	2,40	1,340....	0,84	2,445....	1,46
1.....	0,65	3,95....	2,45	1,380....	0,86	2,480....	1,48
1,09....	0,70	4,03....	2,50	1,415....	0,88	2,515....	1,50
1,18....	0,75	4,10....	2,55	1,455....	0,90	2,545....	1,52
1,27....	0,80	4,17....	2,60	1,490....	0,92	2,575....	1,54
1,36....	0,85	4,24....	2,65	1,525....	0,94	2,605....	1,56
1,46....	0,90	4,30....	2,70	1,560....	0,96	2,635....	1,58
1,55....	0,95	4,37....	2,75	1,600....	0,98	2,670....	1,60
1,64....	1	4,44....	2,80	1,640....	1	2,705....	1,62
1,73....	1,05	4,50....	2,85	1,675....	1,02	2,740....	1,64
1,82....	1,10	4,57....	2,90	1,710....	1,04	2,770....	1,66
1,90....	1,15	4,64....	2,95	1,745....	1,06	2,800....	1,68
1,99....	1,20	4,71....	3	1,780....	1,08	2,830....	1,70
2,08....	1,25	4,77....	3,05	1,815....	1,10	2,860....	1,72
2,17....	1,30	4,84....	3,10	1,850....	1,12	2,890....	1,74
2,25....	1,35	4,91....	3,15	1,885....	1,14	2,925....	1,76
2,34....	1,40	4,97....	3,20	1,915....	1,16	2,955....	1,78
2,43....	1,45	5,03....	3,25	1,950....	1,18	2,990....	1,80
2,51....	1,50	5,09....	3,30	1,990....	1,20	3,020....	1,82
2,59....	1,55	5,16....	3,35	2,025....	1,22	3,050....	1,84
2,67....	1,60	5,22....	3,40	2,060....	1,24	3,080....	1,86
2,75....	1,65	5,29....	3,45	2,095....	1,26	3,110....	1,88
2,83....	1,70	5,35....	3,50	2,130....	1,28	3,145....	1,90
2,91....	1,75	5,41....	3,55	2,165....	1,30	3,175....	1,92
2,99....	1,80	5,48....	3,60	2,200....	1,32	3,205....	1,94
3,07....	1,85	5,54....	3,65	2,235....	1,34	3,235....	1,96
3,15....	1,90	5,60....	3,70	2,270....	1,36	3,265....	1,98
3,22....	1,95	5,67....	3,75	2,305....	1,38	3,290....	2
3,29....	2	5,74....	3,80	2,340....	1,40		
3,37....	2,05	5,80....	3,85				
3,44....	2,10	5,86....	3,90				
3,51....	2,15	5,93....	3,95				
3,59....	2,20	6.....	4				
3,66....	2,25						

TABLEAU IX

Résultats des dosages effectués sur des solutions de glucose pur, de litre connu, et comparativement aux méthodes de Folin-Wu et de Fontes-Thivolle. (Résultats de trois dosages concordants).

Glucose en mgr.	FOLIN-WU ordinaire	Erreur %	FOLIN-WU corrigé	Erreur %	FONTES- THIVOLLE	Erreur %	Deux ind	Erreur %
0,20	0,196	— 2	0,196	— 2	0,198	— 1	0,201	+ 0,5
0,25	0,233	— 6	0,246	— 1,6	0,250	0	0,247	— 1,2
0,30	0,289	— 3	0,301	+ 0,3	0,310	+ 3	0,295	— 1,6
0,40	0,400	0	0,400	0	0,394	— 1,5	0,399	— 0,25
0,60	0,630	+ 5	0,598	— 0,3	0,594	— 1	0,600	— 0
0,80	0,750	— 6	0,800	0	0,800	0	0,807	— 0,37

TABLEAU X

Dosages de glucose sanguin effectués à l'Hôpital Militaire Thermal de Vichy. (Résultats comparés à ceux obtenus par les méthodes de Folin-Wu et de Fontes-Thivolle employant la défécation tungstique).

	FOLIN-WU ordinaire	FOLIN-WU corrigé	FONTES- THIVOLLE	Méthode des deux indicateurs
Mr. Pa....	0,92	0,92	0,90	0,95
Mr. Ba....	1,01	1,01	0,98	1,03
Mr. No....	1,08	1,10	1,06	1,12
Mr. Ta....	1,90	1,94	2,00	1,95
Mr. Go....	1,12	1,16	1,10	1,17
Mr. Ro....	1,30	1,35	1,30	1,34
Mr. Gr....	2,53	2,62	2,64	2,62
Mr. Pi....	0,97	0,98	0,96	0,98
Mr. Pl....	1,02	1,02	1,00	1,02

Notre préférence ira aux méthodes volumétriques. La méthode de FONTÈS-THIVOLLE et celle des deux indicateurs donnent des résultats comparables.

La méthode de FOLIN-WU ordinaire serait le moins exacte ; par contre le FOLIN-WU corrigé donne de bons résultats à condition que la lecture colorimétrique se fasse comparativement à un étalon de teinte très rapprochée. Cette méthode a le désavantage d'introduire dans le dosage, comme tout dosage colorimétrique, un coefficient personnel appréciable.

La méthode des deux indicateurs nous a donné de très bons résultats. Elle peut être appliquée en série.

IV. — APPLICATION DU SEMI-MICRODOSAGE DU CUIVRE SELON LA MÉTHODE DES DEUX INDICATEURS AU DOSAGE DU GLUCOSE DANS LE LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN

La technique que nous avons adoptée est sensiblement la même que celle permettant de doser le glucose sanguin.

Technique.

Défécation : Dans une éprouvette de 20 cc., mesurer successivement en mélangeant dans l'ordre :

Liquide céphalo-rachidien	2 cc.
Eau	6 cc.
Tungstate de soude à 10 %	1 cc.
Acide sulfurique N 2/3	1 cc.

Filtrer et prélever 2 cc. que l'on introduit dans un tube à centrifuger en Pyrex de 20 cc. avec 2 cc. de liqueur cupro-alkaline de Folin. Procéder alors exactement comme dans le cas de la mesure de la glycémie.

Calculs : On se reportera comme dans le cas du sang au tableau VIII donnant la correspondance, mais on divisera le chiffre indiquant le taux de sucre par 2. (Nous sommes partis dans le cas du liquide céphalo-rachidien de 2 cc. au lieu de 1 cc. dans le cas du sang).

Conclusions

La méthode de dosage du glucose et des sucres réducteurs en général que nous proposons, repose sur le principe de l'évaluation titrimétrique de l'ion cuivre.

Par action d'un sucre réducteur sur la liqueur cupro-alcaline de Bertrand, nous obtenons de l'oxydure cuivreux qui, après dissolution dans l'acide azotique, nous donne une solution pure de nitrate cuivrique. Le cuivre, dans cette solution se trouve en quantité déterminée par rapport à la quantité initiale de sucre réducteur.

Nous dosons l'ion cuivrique alcalimétriquement, en présence de deux indicateurs colorés : l'héliantine et la phtaléine, d'où le nom de « Méthode des deux indicateurs » que nous avons donné à ce dosage.

La substitution d'un dosage alcalimétrique de l'ion cuivrique au dosage manganométrique de l'oxydure, tel qu'il est pratiqué dans la méthode de BERTRAND nous permet de négliger sa réoxydation au contact de l'air.

Nous éliminons ainsi la principale cause d'erreur de la méthode de BERTRAND.

Cette méthode possède d'autre part tous les avantages de la méthode de BERTRAND : usage d'un réactif cupro-alcalin en deux solutions se conservant parfaitement, et dont les conditions d'emploi : excès de réactif, concentration, temps de chauffage, sont parfaitement connues.

Alors que la méthode de BERTRAND exige pour le dosage du cuivre certains réactifs spéciaux : solution sulfurique de sulfate ferrique (nécessitant pour sa préparation des réactifs parfaitement purs) et, une solution permanganique dont le titre varie, la méthode des deux indicateurs utilise les solutions courantes de soude et d'acide sulfurique décimales, d'où : économies de réactif.

Si la méthode des deux indicateurs a le léger inconvénient d'être un peu plus longue que celle de BERTRAND, elle est susceptible par contre de pouvoir être appliquée en série. Les manipulations à effectuer sont simples : la réoxydation de l'oxydure n'entre *jamais* en ligne de compte.

De nombreux dosages effectués dans toute l'étendue du domaine de la saccharimétrie nous ont prouvé que la méthode des deux indicateurs donnait des résultats comparables à ceux obtenus par la méthode de BERTRAND. Les erreurs dans les limites du dosage, ne dépassent guère 1 %.

Nous avons appliqué à l'échelle semi-microanalytique le principe du dosage du glucose selon la méthode des deux indicateurs. Ce semi-microdosage nous a permis, après défécation tungstique de 1 cc. de sang, ou de 2 cc. de liquide céphalo-rachidien, de mesurer la glycémie ou la glycorachie avec autant de précision que la méthode titrimétrique de FONTES-THIVOLLE.

Le Doyen :
J. LÉPINE.

Le Président de Thèse,
P. MANCEAU

Vu et permis d'imprimer :
Lyon, le 27 Avril 1939.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,
A. LIRONDELLE.

Bibliographie

1. PELIGOT (E.). — Rapport sur le concours relatif à la découverte d'un moyen saccharimétrique propre à faire connaître promptement la quantité de sucre contenue dans la betterave ou dans tout autre produit sucré. *Rapport présenté à la Société d'Encouragement pour l'Industrie nationale*, 1844, T. 43, 266-270.
2. SCHWARZ. — Ueber die Bestimmung des Stärkmehles auf nassem Wege. *Liebigs Ann.*, 1849, 54-56.
3. POGIALE. — Dosage du sucre de lait par la méthode des volumes et détermination de la richesse du lait. *C. R.*, 1849, T. 28, 505-507.
4. FEHLING. — Die quantitative Bestimmung von Zucker und Stärkmehl mittels Kupfervitriol. *Liebigs Ann.*, 1849, T. 72, 106-113.
5. FEHLING. — Die quantitative Bestimmung von Zucker. *Liebigs Ann.*, 1858, T. 106, 75-79.
6. BODEKER. — *Zeits. f. rationnelle Med.*, 1855, T. 8, 2.
7. STADELER et KRAUSE. — Ueber die Zusammensetzung dess Milchzuckers und sein Verhalten gegen Kupferoxyd. *Mittelhel. d. naturforsch-Gesellsch. in Zürich*, 1854, 473-479.
8. MAERCKER. — Zur gewichtanalytischen Bestimmung der Dextrose mittels alkalischer Kupferlösung. *Chem. Centralblatt*, (3), 1878, T. 9, 584-587.

9. DENIGÈS. — *Précis de Chimie analytique*, 1920.
10. LOWE. — Ueber die Anwendung des Glycerin-Kupferoxydnatronns zur Nachweisung und Bestimmung des Traubenzuckers. *Zeits. f. anal. Ch.*, 1870, T. 91, 20-22.
11. SCHMIEDEBERG. — Eine neue Fehling'sche Lösung. *Chem. Zeit.*, 1885, T. 9, 1432.
12. LUPP. — *Zeits. f. d. ges. Brauereiw.*, 1898, T. 21, 392.
13. CARREZ. — Les réactifs cuivriques et le dosage des sucres ; réactif cuprolactique. *Ann. Ch. analyt.*, 1909 T. 14, 332-338.
14. SOLDAINI. — Un nuovo reattivo per la ricerca e valutazione del glucosio. *Gaz. chim. ital.*, 1876, T. 6, 322-324.
15. OST. — Die Bestimmung der Zuckercerten mit Kupferkalium-carbonatlösung. *Zeits. f. anal. Ch.*, 1890, T. 29, 637-660.
16. FEHLING. — *Archiv. f. physiol. Heilkunde*, 1848 ; *Liebigs Ann.*, 1849, T. 72, 106, et 1858, T. 106, 75.
17. FEHLING. — Preisschrift der Hagen-Buchholzstiftung. *Archiv. f. Pharm.*, 1852, T. 119, 278.
18. CLAUS. — Ueber die Zersetzung des Traubenzuckers durch Kupferoxyd in alkalischer Lösung. *Journ. f. Prakt. ch.*, (2), 1871, T. 4, 63-96.
19. CLAUS. — Ueber die Zersetzung des Traubenzuckers in alkalischer Lösung durch Kupferoxyd ; Bildung von Oxymalonsäure (Tartronsäure). *Liebigs Ann.*, 1868, T. 147, 114-119.
20. HABERMANN et HONIG. — Ueber die Einwirkung von Kupferoxydhydrat auf einige Zuckerarten. *Monatsch. f. Ch.*, 1882, T. 3, 651-672 ; et 1884, T. 5, 208-216.
21. KJELDAHL. — Recherches sur l'action des solution cuivriques alcalines sur les sucres. *C. R. des Travaux du Laboratoire de Carlsberg*, 1895, T. 4, 1-9.
22. ALLEIN et GAUD. — Sur certains produits de décomposition du glucose. *Journ. Pharm. et Ch.*, (5), 1894, T. 30, 300-305.

23. SOXHLET. — Das verhalten der Zuckerarten zu alkalischen Kupfer und Quecksiberlösungen. *Journ. f. prakt. chem.*, (2), 1880, T. 21, 227-317.
24. TANRET. — *Bull. de Thérapeutique*, 1878, T. 24, 206.
25. PATEIN et DUFAU. — *Journ. Pharm. et Ch.*, (6), 1902, T. 15, 221.
26. CAUSSE. — Sur le dosage du sucre par la liqueur de Fehling. *Bull. Soc. Chim.*, (2), 1888, T. 50, 625-628.
27. CATELAIN. — Histoire d'un réactif : la liqueur de Fehling. *Journ. Pharm. Ch.*, 1929, T. 2, 405-413.
28. BERTRAND. — *Bull. Soc. Chim.*, (3), 1906, T. 35, 1285.
29. SIDERSKY. — Die Bestimmung des Invertzuckers auf alkalimetrischen Wege. *Zeits. d. Vereins. f. d. Rübenzucker-industrie*, 1882, T. 32, 779-780.
30. LESCŒUR (H.). — *Bull. de la Soc. Ch. de Paris*, 1897.
31. PASCAL (Paul). — *Traité de chimie minérale*, T. VIII.
32. LEWIS et BENEDICT. — A method for the estimation of Sugar in small quantities of Blood. *Journ. of Biol. chem.*, 1915, T. 20, 61-72.
33. ADDIS et SHEVKY. — The rate of color Production in Alkaline solutions of Dextrose and Picrate. *Journ. Biol. chem.*, 1918, T. 35, 43-51.
34. HAGEDORN et NORMAN JANSEN. — Zur Mikrobestimmung des Blutzuckers mittels Ferrycianid. *Biochem. Zeitschr.*, 1923, T. 135, 46-58.
35. BAUDOUIN et LEWIN. — Une nouvelle méthode de dosage de petites quantités de sucre. Application au sang et aux autres humeurs de l'organisme. *Bull. de la Soc. de Ch. biol.*, 1927, p. 280.
36. BANG. — Ueber die Mikrobestimmung des Blutzuckers. *Biochem. Zeitschr.*, T. 87, 248-258, 1918.
37. GUILLAUMIN. — Sur le dosage de petites quantités de sucres réducteurs dans les liquides de l'organisme. *Journ. de Pharm.*, T. 2, 327-336, 1920.

38. FOLIN et WU. — A system of Blood Analysis. *Journ. of Biol. chem.*, T. 38, 81-110, 1919.
 39. ROTHBERG et EVANS. — Studies with the FOLIN and WU blood-Sugar determination. *Journ. of Biol. chem.*, T. 38, 435-442 1923.
 40. ROTHBERG et EVANS. — A modified FOLIN and WU Blood-Sugar Method. *Journ. of Biol. chem.*, T. 38, 443-451, 1923.
 41. FONTÈS-THIVOLLE. — *Bull. de la Soc. Chim. biol.*, T. 9, 353, 1937.
-

Table des Matières

AVANT-PROPOS	7
INTRODUCTION	9
PLAN	13

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE I. — <i>Les liqueurs cupro-alkalines</i>	17
CHAPITRE II. — <i>Les méthodes de dosage</i>	21
Généralités	21
La méthode de Fehling	26
La méthode de Causse-Bonnans	28
La méthode de Bertrand	29
CHAPITRE III. — <i>Les travaux de H. Lescœur</i>	37

DEUXIÈME PARTIE

Recherches personnelles.

CHAPITRE I. — <i>Le dosage du cuivre selon la méthode des deux indicateurs</i>	45
CHAPITRE II. — <i>Application au dosage du glucose et des sucres réducteurs en général</i>	53
Technique du dosage des sucres réducteurs.	
Résultats	59
CHAPITRE III. — <i>Application de la méthode proposée en chimie alimentaire, chimie biologique et pharmacie chimique</i>	67
1° Application en chimie alimentaire	68
Analyses de confitures	68
Analyses de compotes et marmelades	68
Sucres réducteurs dans les vins rouges ..	69
Matières amylacées dans les pains de régime	69
Amidon dans les pâtés de foie	69
Analyses de fourrages mélassés	69
2° Analyses de sirops officinaux	70
3° Lactose des laits	70
4° Glucose des urines de diabétiques	71

CHAPITRE IV. — <i>Application particulière au dosage du glucose contenu dans le sang ou dans le liquide céphalo-rachidien</i>	73
I. Les différents principes possibles de micro-dosages du glucose	73
Méthode de Folin-Wu	76
Méthode de Fontes-Thivolle	77
II. Mise au point à l'échelle semi-micro-analytique du dosage du cuivre selon la méthode des deux indicateurs	79
III. Application du semi-micro-dosage du cuivre au dosage du glucose dans le sang	85
Technique	90
Résultats	94
IV. Application du semi-micro-dosage du cuivre au dosage du glucose dans le liquide céphalo-rachidien	95
CONCLUSIONS	97
BIBLIOGRAPHIE	101

IMPRIMERIE DE TREVoux

G. Patissier

1938

